COUNTWAY LIBRARY
HC 6EBG

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. F. BÜCHNER
PROFESSOR DER PATHOLOGIE
FREIBURG

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG

DR. W. HEUBNER
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
BERLIN

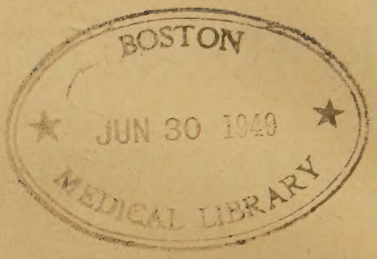
205. BAND

MIT 150 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

SPRINGER-VERLAG

1948

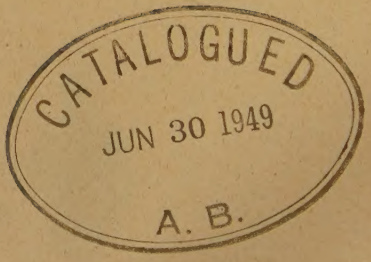


Veröffentlicht unter Zulassung Nr. US-W-1093
der Nachrichtenkontrolle der Militärregierung.

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.

Springer-Verlag, Berlin, Göttingen und Heidelberg.

Printed in Germany.



Inhalt des 205. Bandes.

Seite

Beckermann, Franz s. **Otto Schumm.**

Belke, Jürgen und **August Dierkesmann,** Eine flammenphotometrische Methode zur Bestimmung von Natrium, Kalium und Kalzium in biologischen Flüssigkeiten. Mit 7 Textabbildungen 629

Bernfeld, P. s. **Kurt H. Meyer** und **P. Gürtler.**

Blume, Wilhelm † und **Walter Vogel,** Über die Resorption des Cibazols nach peroraler und rektaler Anwendung beim Menschen. Mit 1 Textabbildung 429

Bonsmann, Richard, Zur Pharmakologie der Chinaalkaloide 129

Bruns, Friedrich s. **Fritz Hahn.**

Dierkesmann, August s. **Jürgen Belke.**

Eichler, Oskar und **Wolfram Stober,** Über die Umsetzungen von Pyrophosphat am Froschherzen. Mit 1 Textabbildung 647

Exner, Maria s. **Peter Holtz** und **Hans-Joachim Schümann.**

Fischer, Lena, Rudolf Kopf und **Arnold Loeser,** Allgemeinwirkungen und Blutbildveränderungen durch Thiouracil und 4-Methylthiouracil. Mit 3 Textabbildungen 730

Fleckenstein, Albrecht, Über den Einfluß der Ester von Monohalogenessigsäuren auf den Hefestoffwechsel. Mit 7 Textabbildungen 21

Frey, Ernst, Die Gegenwirkung von Atropin gegen Azetylcholin 137

— und **Joachim Frey,** Der Einfluß von Azetylcholin und Adrenalin auf die Ruhedehnungskurve und Refraktärzeit des isolierten Froschventrikels. Mit 3 Textabbildungen 590

— **Joachim** s. **Ernst Frey.**

Fromherz, K. und **S. Markees,** Über Verträglichkeit und Stoffwechselwirkung großer Dosen eines Aminosäuregemischs. Mit 1 Textabbildung 158

Geiling, E. M. K. and **F. E. Kelsey,** Metabolism of quinine 167

Genersich, P. s. **B. v. Issekutz jun.** und **E. Komlós.**

Gergely, J. s. **B. v. Issekutz jun.**

Gessner, Otto, Vergleichend-pharmakologische Untersuchungen über die analeptische Wirkung von Samandarin, Pikrotoxin und Cardiazol. Mit 3 Textabbildungen 1

Gotsev, T., Blutdruck und Herztätigkeit. VI. Mitteilung. Kreislaufwirkung von Pepton. Mit 12 Textabbildungen 536

Gremels, Hans, Zur Substratsteuerung des Stoffwechsels und ihrer therapeutischen Anwendung am Menschen. Mit 4 Textabbildungen 57

Gürtler, P. s. **Kurt H. Meyer** und **P. Bernfeld.**

Haas, Hans T. A., Reizstoffe und ihre Wirkungsweise. Mit 3 Textabbildungen 170

Hahn, Fritz, Untersuchungen über die Angriffspunkte von Cardiazol und Coramin. I. Über die Krampf- und Weckwirkung 552

— II. Über die Blutdruckwirkung s. **Hahn** und **Simon.**

— III. Über die Wirkung auf den zentralen Parasympathikus 572

— IV. Über die Wirkung auf den zentralen Sympathikus. Mit 4 Textabbildungen 582

Seite

Hahn, Fritz und **Friedrich Bruns,** Modellversuche zur therapeutischen (zellabdichtenden) Wirkung organischer und anorganischer Kalziumpräparate 189
— und **Kurt Simon,** Untersuchungen über die Angriffspunkte von Cardiazol und Coramin. II. Über die Blutdruckwirkung. Mit 2 Textabbildungen . 563
Hauschild, Fritz und **Hans Philipp Landbeck,** Die Wirkung einiger aliphatischer Amine am Froschdurchströmungspräparat. Mit 1 Textabbildung. . . . 203
Heim, Fritz, Über die Blutdruckwirksamkeit von Sympatol an Menschen nach Vorbehandlung mit Ephedrin, Veritol und Pervitin. Mit 3 Textabbildungen 470
— Zum Mechanismus der organotropen Neosalvarsanwirkung. Mit 5 Textabbildungen 614
Heite, Hans-Joachim, Mathematisch-statistische Untersuchungen zur Bestimmung der mittleren wirksamen Dosis. Mit 2 Textabbildungen 524
Hering, Hans-Werner s. **Karl Oberdisse.**
Heubner, Wolfgang, Giftung aromatischer Nitroverbindungen 310
Hildebrandt, Fritz, Über Kumulation der Digitalisglykoside am Katzenherzen 210
Hoffmann, Irmgard und **Ludwig Lendle,** Zur Wirkungsweise neuer insektizider Stoffe 223
Hofmann, Heinrich, Über jahreszeitliche Schwankungen der Permeabilität tierischer Membranen. Mit 3 Textabbildungen 216
Holtz, Peter, Maria Exner und **Hans-Joachim Schümann,** Zellreiz und Zellschädigung: Untersuchungen über die „Reizgärung" und „Reizatmung" der Hefezelle. Mit 18 Textabbildungen 243
Hotovy, Rudolf, Über die Harnbildung der Schildkrötenniere 38
— Versuche zur Frage des Einflusses der chronischen Nikotinschädigung auf Fruchtbarkeit und Nachkommenschaft 54
— **P. Genersich** und **E. Komlós,** Antagonismus zwischen Thyroxin und Morphin-Scopolamin. Mit 2 Textabbildungen 415
— und **J. Gergely,** Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf den Stoffwechsel 399
Issekutz, B. v. jun. und **A. Murányi,** Über die Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf die zentral und peripher bedingte Stoffwechselsteigerung 406
Junkmann, Karl, Einiges über Impftumoren 276
Kelsey, F. E. s. **E. M. K. Geiling.**
Kesztyüs, L., Über die Azoverbindungen des Histamins. 287
Kiese, Manfred, Darstellung und Eigenschaften von Verdoglobinen. III. Mitteilung. Über die prosthetische Gruppe des Verdoglobins (Sulfhämoglobins). Mit 2 Textabbildungen 747
Komlós, E. s. **B. v. Issekutz** und **P. Genersich.**
Kopf, Rudolf s. **Lena Fischer** und **Arnold Loeser.**
Kühn, Hans Adolf und **Josef Pichotka,** Untersuchungen über die langfristige Einwirkung einer hochprozentigen Sauerstoffatmosphäre bei vermindertem Gesamtdruck 659
— — Über die Morphogenese der Lungenveränderungen bei der Sauerstoffvergiftung. Mit 5 Textabbildungen 667
Kuschinsky, Gustav, Über die Wirkung von embryonalem Herzextrakt auf Herz- und Nebennierenhypertrophie im Schwimmversuch 424
Landbeck, Hans Philipp s. **Fritz Hauschild.**
Langecker, Hedwig, Über Sulfonamide 291
Laqueur, Ernst †, Lokale Anwendung von Sexualhormonen. Eine Anregung 302

Seite

Lendle, Ludwig s. **Irmgard Hoffmann.**

Lipschitz, Werner†, Giftung und Entgiftung aromatischer Nitroverbindungen 305

Loeser, Arnold s. **Lena Fischer** und **Rudolf Kopf.**

Malorny, Günther, Das Verhalten der Elektrolyte im Blut und Gewebe bei erhöhten CO_2-Spannungen der Atmungsluft. Mit 3 Textabbildungen . 684

Mancke, Rudolf und **Gerhard Orzechowski,** Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus der Sympathikomimetika. XVI. Klinische Anwendung der Sensibilisierung der peripheren Sympathikusendigungen. Intravenöse „Novocain"-Therapie 311

Markees, S. s. **K. Fromherz.**

Meyer, Kurt, H., P. Bernfeld und **P. Gürtler,** Die Konstitution des Glykogens. Mit 4 Textabbildungen 322

Murányi, A. s. **B. v. Issekutz jun.**

Oberdisse, Karl und **Hans-Werner Hering,** Glykogenneubildung an der isolierten durchströmten Leber; zugleich ein Beitrag zur Frage der Wirkung synthetischer Nebennierenrindenpräparate auf den Glykogenansatz. Mit 2 Textabbildungen 46

Orzechowski, Gerhard s. **Rudolf Mancke.**

Pichotka, Josef s. **Hans Adolf Kühn.**

Reiter, Melchior, Über die Hämiglobinbildung durch p-Nitro-o-toluidin. Mit 1 Textabbildung 327

Rentz, Eduard, Zum Wirkungsmechanismus einiger bei Leber- und Gallenleiden angewandter pflanzlicher Mittel (Berberis, Chelidonium, Chelone). Mit 4 Textabbildungen 332

Riesser, Otto, Betrachtungen über das Acetylcholin und die Übertragung der Erregung vom Nerven auf den Muskel 340

Rodewald, Wilhelmine, Der Einfluß von Hämatoporphyrin auf die Wirkung einiger Krampfgifte (Coramin, Cardiazol, Strychnin) 434

— Über die Veränderungen im weißen Blutbild nach wiederholten Blutabnahmen bei der Laboratoriumsratte 437

Schaumann, O. und **Lisbeth Schmidt †,** Über die Beeinflussung der Wirkung von Oxytocin und Vasopressin auf die Salzdiurese durch Salyrgan. Mit 1 Textabbildung 367

Schimert jun., Gustav, Wirkung des Prostigmins auf die Durchblutung des Magens. Mit 2 Textabbildungen 607

Schmidt, Lisbeth† s. **O. Schaumann.**

Schölmerich, Paul, Zur pathologischen Physiologie der Überhitzung durch Strahlung. I. Mitteilung. Kreislauf und Atmung. Mit 7 Textabbildungen. 441

— II. Mitteilung. Die Bildung kreislaufwirksamer, körpereigener Stoffe. Mit 4 Textabbildungen 456

Schümann, Hans-Joachim s. **Peter Holtz** und **Maria Exner.**

Schumm, Otto und **Franz Beckermann,** Über den Porphyringehalt des Blutes bei Krankheiten und nach Zufuhr von Hämatoporphyrin-Nencki oder Protoporphyrin 98

Seelkopf, Karl und **Robert von Werz,** Über die Rolle der Kohlensäure bei der Sauerstoffvergiftung 351

— — Versuche über die Behandlung des Gasödems durch Einatmung von Sauerstoff 480

Seite

Simon, Kurt s. **Fritz Hahn.**
Stober, Wolfram s. **Oskar Eichler.**
Ther, Leopold, Über einige Gesetzmäßigkeiten der Diurese. Mit 5 Textabbildungen 376
Vályi-Nagy, Tibor, Über den Zusammenhang zwischen Chlorit- und Chloratvergiftung. Mit 2 Textabbildungen 382
Verney, E. B., Die Hemmung der Wasserdiurese durch Erhöhung des osmotischen Druckes im Karotisplasma und ihre Vermittlung über die Neurohypophyse. Mit 4 Textabbildungen 387
Verney, E. B., Nachtrag zu der vorgenannten Arbeit 758
Vogel, Walter s. **Wilhelm Blume†.**
Wachholder, Kurt, Zur hungerstillenden Wirkung des Rauchens. Mit 9 Textabbildungen 115
Weitzel, Günther, Stoffwechselbelastung mit Atophanyl 393
Werz, Robert v. s. **Karl Seelkopf.**
Wick, Helmut, Kreislaufwirkung neuer adrenalinverwandter Substanzen. Mit 10 Textabbildungen 490

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Halle-Wittenberg.

Vergleichend-pharmakologische Untersuchungen über die analeptische Wirkung von Samandarin, Pikrotoxin und Cardiazol.

Von

Prof. Dr. med. Otto Gessner*.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Mai 1944.)

I. Einleitung.

O. Gessner und W. Esser[1] hatten am Kaltblüter (Feuersalamanderlarven) und am Warmblüter (Kaninchen) gefunden, daß dem Samandarin, dem Hauptalkaloid des Salamandergiftes (Literatur bei O. Gessner[2]), eine kräftige analeptische Wirkung zukommt, hatten indessen aus den Ergebnissen ihrer Untersuchungen den Schluß gezogen, daß die Verwendbarkeit des Samandarins in der Therapie als Analeptikum durch das geringe Ausmaß der therapeutischen Breite in Frage gestellt sei.

Nachdem aber in den letzten Jahren das in seiner Krampfwirkung dem Samandarin nahe verwandte (O. Gessner[3,4]) und bisher trotz der schon vor über 50 Jahren in Schmiedebergs Institut von M. Köppen[5] gefundenen analeptischen Wirkung in der Therapie gemiedene Pikrotoxin in einer ganzen Reihe von Untersuchungen im Tierversuch (A. H. Maloney, R. H. Fitch und A. L. Tatum[6], A. H. Maloney und A. L. Tatum[7], A. H. Maloney[8,9], O. W. Barlow[10], Th. Koppanyi, Ch. R. Linegar und J. M. Dille[11], S. C. Das[12], H. W. Werner und A. L. Tatum[13], M. Chakravarti[14], G. Caizzone und R. Rigano[15], J. J.

* Unter Mitarbeit von R. Mattil und E. Müller.

[1] Gessner, O. u. W. Esser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 755 (1935). — [2] Gessner, O.: Nova Acta Leopold. (D.), N. F. **12**, Nr 88, 405 (1943). — [3] Gessner, O.: Ber. Ges. ges. Naturw. Marburg **61**, 138 (1926). — [4] Gessner, O: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **119**, 53 (1927). — [5] Köppen, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **29**, 327 (1892). — [6] Maloney, A. H., R. H. Fitch u. A. L. Tatum: J. Pharmacol. (Am.) **41**, 465 (1932). — [7] Maloney, A. H. u. A. L. Tatum: J. Pharmacol. (Am.) **44**, 337 (1932). — [8] Maloney, A. H.: J. Pharmacol. (Am.) **49**, 133 (1933). — [9] Maloney, A. H.: Arch. internat. Pharmacodynam. **64**, 432 (1940). — [10] Barlow, O. W.: J. Pharmacol. (Am.) **55**, 1 (1935). — [11] Koppanyi, Th., Ch. R. Linegar u. J. M. Dille: J. Pharmacol. (Am.) **58**, 199 (1936). — [12] Das, S. C.: Quart. J. exper. Physiol. **29**, 355 (1939). — [13] Werner, H. W. u. A. L. Tatum: J. Pharmacol. (Am.) **66**, 260 (1939). — [14] Chakravarti, M.: J. Pharmacol. (Am.) **67**, 153 (1939). — [15] Caizzone, G. u. R. Rigano: Arch. ital. Sci. farmacol **9**, 231 (1939).

Bouckaert und R. Marri[16]) und am Menschen (Th. Koppanyi, Ch. R. Linegar und J. M. Dille[11], W. J. Blackwenn und M. G. Masten[17], H. Taeger[18], R. A. Hoekstra und A. J. B. Poortman[19], A. J. H. Ebes[20], S. W. Gilman[21], G. M. Slot[22], A. Harrestrup-Andersen[23], Ph. Pagniez[24], S. Rodriguez[25], C. T. van Valkenburg[26] und M. Fishman[27]) als ein insbesondere bei Vergiftung mit Barbitursäureabkömmlingen sehr wirksames Analeptikum erkannt und bereits in die Therapie eingeführt worden ist, erschien uns eine nochmalige pharmakologische Untersuchung der analeptischen Wirkung des Samandarins im Vergleich zu der analeptischen Wirkung des Pikrotoxins angebracht. Diese vergleichend-pharmakologischen Untersuchungen glaubten wir deswegen durch Hinzuziehen des Cardiazols als des bekanntesten und wohl auch meist gebrauchten der modernen Analeptika erweitern zu sollen, weil im Cardiazol der Typ eines starken Analeptikum mit schnellem Wirkungseintritt, aber kurzer Wirkungsdauer vorliegt, während es sich bei Samandarin und Pikrotoxin um Krampfgifte mit verhältnismäßig langsamem Wirkungseintritt, aber bedeutend längerer Wirkungsdauer handelt.

II. Experimenteller Teil.

Um möglichst große Reihen von Versuchstieren zu haben, wurden die Untersuchungen an Kaltblütern (Feuersalamanderlarven) und vergleichsweise auch an Fischen (Stichlingen) durchgeführt.

Als Narkotika dienten die Vertreter dreier verschiedener Konstitutions- und Wirkungstypen: Avertin-Bayer*, Äthylurethan — Merck und Veronal — DA 6.

Von den Analeptika lag Samandarin als kristallisiertes Chlorhydrat (C. Schöpf und W. Braun[28]) vor, Pikrotoxin als kristallisiertes Präparat von Merck und Cardiazol als Originalsubstanz von Knoll.

Alle Lösungen wurden für jeden Versuch frisch bereitet und den verwendeten Versuchstieren entsprechend mit Aquarienwasser angesetzt.

---

* Bei der Herstellung der Lösungen aus Avertinsubstanz wurde Erwärmen über 30° C vermieden und vollständige Auflösung durch Schütteln erzielt.

[16] Bouckaert, J. J. u. R. Marri: Arch. internat. Pharmacodynam. **64**, 461 (1940). — [17] Blackwenn, W. J. u. M. G. Masten: J. amer. med. Assoc. **111**, 505 (1938). — [18] Taeger, H.: Slg Vergift.fälle **9**, A 752, S. 127 (1938). — [19] Hoekstra, R. A. u. A. J. B. Poortman: Ndld. Geneesk. **83**, 4513 (1939). — [20] Ebes, A. J. H.: Acta neerld. Physiol. etc. **9**, 137 (1939). — [21] Gilman, S. W.: Lancet **238**, 598 (1940). Ref. Chem. Zbl. **1940 II**, 1173. — [22] Slot, G. M.: Brit. med. J. **1940 I**, 849. Ref. Chem. Zbl. **1941 II**, 1416. — [23] Harrestrup-Andersen, A.: Nord. Med. **9**, 267 (1941). — [24] Pagni z. Fh : Presse méd. **1940**, 57. — [25] Rodriguez, S.: Rev. clin. españ. **4**, 129 (1942). Ref. Ber. Physiol. usw. **130**, 318. — [26] Valkenburg, van C. T.: Ndld. Tschr. Geneesk. **86**, 1765 (1942). — [27] Fishman, M.: Lancet **242**, 199 (1942). Ref. Chem. Zbl. **1943 I**, 1693. — [28] Schöpf, C. u. W. Braun: Liebigs Ann. **514**, 69 (1934).

In allen Schalen wurden Temperatur und p_H der Versuchsflüssigkeiten, in welche die Larven (20 ccm) bzw. die Fische (200 ccm) einzeln eingesetzt wurden, in jeder einzelnen Reihe konstant gehalten. Auch zwischen den einzelnen Versuchsreihen bestanden hinsichtlich Temperatur und p_H keine oder nur geringfügige Unterschiede.

A. Versuche an Feuersalamanderlarven*.

Versuchsanordnung wie früher beschrieben (O. Gessner und A. Behrends[29], O. Gessner und W. Esser[1]).

Um weitestgehende Übereinstimmung in der Reaktionsweise der Tiere zu gewährleisten, wurden wie früher zu jeder Versuchsreihe nur Larven benutzt, die von demselben Muttertier stammten. Im ganzen kamen 597 Salamanderlarven zur Verwendung.

Jede Versuchsreihe umfaßte folgende Einzelversuche:

1. Hauptreihe mit Larven, die zunächst in verschieden starke, innerhalb jeder Reihe gleichstarke Lösungen eines der 3 Narkotika eingesetzt wurden und darin nicht nur bis zum Eintritt der Lähmung (Seiten- bzw. Rückenlage, Verschwinden aller spontanen und reflektorischen** Bewegungen), sondern über den Eintritt der Lähmung hinaus bis zum Doppelten der Lähmungszeit, teilweise noch bedeutend länger, in der Narkotikumlösung verblieben, um ein den Vergiftungen beim Menschen ähnliches Vergiftungsstadium zu erreichen, ehe die Einwirkung der Analeptika einsetzte. Nach Ablauf der für alle Tiere derselben Hauptreihe gleichlangen Einwirkung der Narkotika erfolgte Umsetzen in die Lösungen (meist 3, sonst 2 verschiedene Konzentrationen) der 3 Analeptika. Vom Umsetzen aus der Narkotikumlösung in die Analeptikumlösung gerechnet, wurde dann die Zeit bestimmt a) bis zum Eintritt der *analeptischen Wirkung* (Wiederauftreten spontaner koordinierter Bewegungen = Umherschwimmen), in den Abbildungen dargestellt als *schwarze* Säule; b) bis zum Auftreten von *Krämpfen* (spontan auftretende, die Tiere in der Flüssigkeit umherwirbelnde Krämpfe), *farblose* (leere) Säule in den Abbildungen.

2. Kontrollreihe I (= Narkotikumkontrollen) mit Larven, die in genau der gleichen Weise wie die Tiere der Hauptreihe mit Narkotikum vorbehandelt und zur gleichen Zeit aus der Narkotikumlösung umgesetzt wurden, und zwar in reines Wasser, um die Zeit bis zum Eintritt der *spontanen Erholung* (Wiederkehr spontaner Bewegungen und der normalen Körperhaltung) zu ermitteln, *graue Säule* in den Abbildungen.

3. Kontrollreihe II (= Analeptikumkontrollen) mit Larven, die *ohne* Vorbehandlung mit Narkotikum unmittelbar in die entsprechenden Analeptikalösungen eingesetzt wurden, um die Zeit bis zum Auftreten der *Krämpfe* bei nichtnarkotisierten, normalen Larven zu bestimmen, *schraffierte* Säule in den Abbildungen.

Während die Kontrollreihe I (Narkotikumkontrollen) unerläßlich ist für die Beurteilung des *Grades* der analeptischen Wirksamkeit, hat die Kontrollreihe II (Analeptikakontrollen) Bedeutung für die Beurteilung der *Wirkungsbreite*.

---

* Diese Versuche wurden von O. Gessner und R. Mattil Januar bis März 1942 durchgeführt und von O. Gessner 1943 ergänzt. Einzelheiten der Versuchsanordnung und ausführliche Protokolle in der Dissertation von R. Mattil (Halle 1942.)

** Geprüft durch Berühren mit einem Glasstab.

[29] Gessner, O. u. A. Behrends: Klin. Wschr. **1933 II**, 1450.

Als *Wirkungsbreite* wird hier der zeitliche Abstand zwischen der analeptischen und der krampfmachenden Wirkung im Narkoseversuch* angesehen und darin ein Ausdruck der *therapeutischen Breite* der Analeptika erblickt.

Nach Eintritt der Krämpfe wurden die Larven der Hauptreihe sofort wieder in reines Wasser gebracht und die Zeit bis zum Wiederverschwinden der spontanen (nicht durch äußere Reize wie Berühren mit einem Glasstab ausgelösten) Krämpfe = *Erholung* bestimmt. Diese Werte erscheinen zwar, um die Übersichtlichkeit nicht zu beeinträchtigen, nicht in den Abbildungen, sie wurden aber bei der Besprechung der Versuche berücksichtigt, weil aus ihnen Schlüsse auf die Wirkungsdauer der Analeptika gezogen werden können.

4. Kontrollreihe III (= Wasserkontrollen) mit Larven, die sich von vornherein nur in reinem Wasser befanden und dazu dienten, erstens das normale Verhalten nicht vergifteter Larven jederzeit zum Vergleich mit den behandelten Tieren zur Hand zu haben und zweitens etwaige nicht durch die angewandten Pharmaka, sondern durch andere Faktoren (z. B. O_2-Mangel) hervorgerufene Veränderungen im Verhalten der Larven ausschließen zu können.

Die Höhe der anzuwendenden Analeptikumkonzentrationen wurde auf Grund von Vorversuchen, in denen die Larven ausschließlich der Wirkung der einzelnen Analeptika ausgesetzt waren, ermittelt. Von Samandarin wurden verwendet: 1 : 15000, 1 : 10000, 1 : 5000; von Cardiazol 1 : 750, 1 : 500, 1 : 250; von Pikrotoxin 1 : 500, 1 : 400, 1 : 300. Diese Konzentrationen entsprachen sich in der angegebenen Reihenfolge ungefähr in ihrer Krampfwirkung, gemessen an der Zeit bis zum Eintritt der Krämpfe. Die im Verhältnis zur hohen Wirksamkeit bei parenteraler Zufuhr am Frosch und am Fisch (hier erwies sich Pikrotoxin noch wirksamer als Samandarin, s. Seite 11) auffallend geringe Wirksamkeit des Pikrotoxins an den Salamanderlarven erklärt sich durch die schlechte Resorption dieses Krampfgiftes durch die Kiemen und die Haut der Larven.

Ergebnisse:

Hier können aus Gründen der Raumersparnis nur die wichtigsten Ergebnisse mitgeteilt und nur in wenigen Beispielen durch graphische Darstellungen (Abb. 1 und 2) wiedergegeben werden. Die vollständigen Protokolle sind in den Tabellen der Dissertation von R. Mattil bzw., soweit es sich um die Ergänzungsversuche von O. Gessner handelt, im Pharmakologischen Institut Halle einzusehen.

Avertin.

Avertin führte, wie früher schon gefunden (O. Gessner und A. Behrends[29]), noch 1 : 40000 innerhalb 2 Stunden zur Lähmung. Offenbar wird dieser halogenisierte Alkohol durch die Kiemen und die schleimhautartige Oberfläche der Larven ebenso gut oder noch besser resorbiert als durch die Rektalschleimhaut des Menschen.

* In den Abbildungen = Abstand zwischen den oberen Enden der schwarzen und der farblosen (leeren) Säule.

Wir benutzten zu unseren Versuchen verschiedene, weit überschwellige bis hohe Konzentrationen von Avertin.

Avertin 1 : 10000 führte in durchschnittlich $15^1/_2$ (frühestens $14^1/_2$, spätestens $16^1/_2$ Min. zur Lähmung; die Larven blieben etwa 100% länger als die Lähmungszeit (genau 30 Min. vom Beginn der Avertineinwirkung an) in der Narkotikumlösung. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind aus der Abb. 1 A zu ersehen.

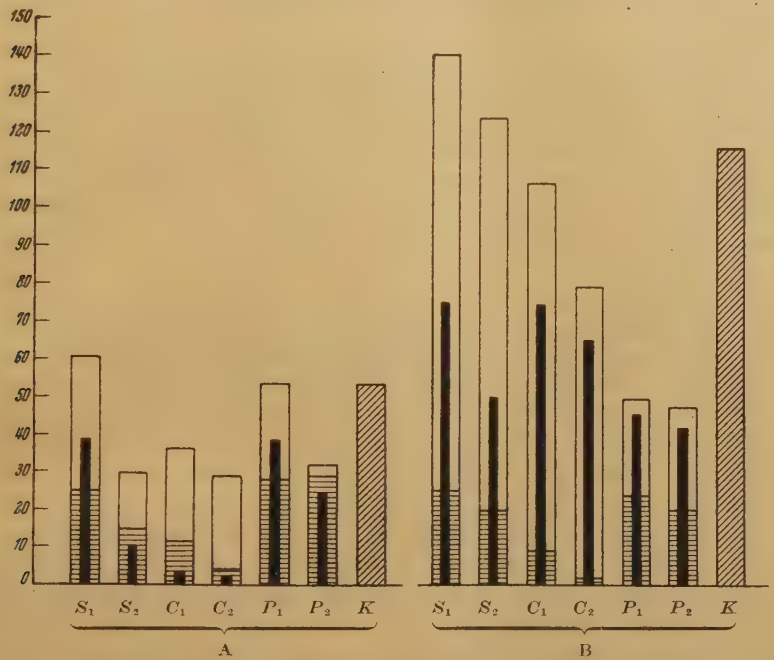


Abb. 1 A u. B. Versuch an Salamanderlarven. Vorbehandlung mit Avertin. A Avertin 1 : 10000, Lähmung nach $15^1/_2$ Min., Einwirkungsdauer 30 Min., Temperatur 18° C, pH 7,6; B Avertin 1 : 1000, Lähmung nach $4^1/_2$ Min., Einwirkungsdauer 20 Min., Temperatur 19° C, pH 7,6. Bei A wie bei B: S_1 Samandarin 1 : 10000; S_2 Samandarin 1 : 5000; C_1 Cardiazol 1 : 500; C_2 Cardiazol 1 : 250; P_1 Pikrotoxin 1 : 400; P_2 Pikrotoxin 1 : 300; K Wasser (Avertinkontrollen). Bedeutung der Säulen: *schwarz* Zeit bis Eintritt der analeptischen Wirkung; *farblos* Zeit bis Eintritt der Krämpfe bei den Avertintieren; *schraffiert* dasselbe bei den nicht mit Avertin vorbehandelten Analeptikumkontrollen; *grau* spontane Erholung der Avertintiere in Wasser.

Gemessen an der spontanen Erholung der Avertinkontrollen war die analeptische Wirkung der beiden schwächeren (an sich aber verhältnismäßig hohen) Konzentrationen von Samandarin (1 : 10000) und Pikrotoxin (1 : 400) in gleichem Grade mäßig, während die höhere Konzentration von Samandarin (1 : 5000) bedeutend schneller, aber immer noch erheblich später als Cardiazol in beiden Konzentrationen zur analeptischen Wirkung führte. Die Wirkungsbreite war in dieser Reihe bei Cardiazol am größten, bei Pikrotoxin, besonders in höheren Konzentrationen, am geringsten.

Avertin 1 : 5000: Lähmung nach 7 (frühestens 6, spätestens $7^1/_2$ Min.) Einwirkungsdauer des Avertins 15 Min. = etwa 200% der Lähmungszeit. Die spontane Erholung in Wasser erfolgte in diesem Versuch nach 65 Min., die analeptische Wirkung in Samandarin 1 : 10000 bzw. 1 : 5000 in 21 bzw. 12, in Pikrotoxin 1 : 400 bzw. 1 : 300 in 25 bzw. (auffallenderweise) 31, in Cardiazol 1 : 500 in 8 Min. in Cardiazol 1: 250 bereits in weniger als 1 Min. (12 Sek.); durch diesen letzten Wert wird die außerordentlich schnelle Resorption des Cardiazols bei den Larven unterstrichen.

Auch in diesem Versuch war die Wirkungsbreite wieder am größten bei Cardiazol, geringer, aber immerhin noch erheblich, bei Samandarin, das in seiner analeptischen Wirkung hier dem Pikrotoxin deutlich überlegen war, am geringsten bei Pikrotoxin. Bei Pikrotoxin war außerdem auch die Verzögerung des Krampfeintrittes durch das Avertin am geringsten: 30 gegenüber 17 bzw. 46 gegenüber 19 Min., etwas größer bei Samandarin (54 : 23 bzw. 29 : 9) und am größten bei Cardiazol (33 : 4 bzw. 26 : 0,2).

Avertin 1 : 1000 (s. Abb. 1 B) Lähmung nach $4^1/_2$ (frühestens $4^1/_2$, spätestens 5) Min., Einwirkungsdauer 20 Min, also ganz bedeutend länger als in den beiden ersten Versuchen. Entsprechend dieser, > 400% der Lähmungszeit betragenden verlängerten Einwirkungsdauer und der hohen Avertinkonzentration erfolgte die spontane Erholung in Wasser erst nach rund 2 Stunden.

Die analeptische Wirkung war bei dieser „schweren" Avertinvergiftung am besten bei Pikrotoxin in beiden Konzentrationen und bei der höheren Samandarinkonzentration (1 : 5000), während Samandarin 1 : 10000 zwar immer noch kräftig, aber doch schwächer und im übrigen etwa gleichstark, in der höheren Konzentration bedeutend stärker analeptisch wirkte als Cardiazol in beiden Konzentrationen. Die Wirkungsbreite war aber bei Pikrotoxin in diesem Versuch am kleinsten, am größten dagegen bei Samandarin und noch sehr erheblich bei Cardiazol. Mit der Verzögerung des Krampfeintrittes verhielt es sich hier ähnlich wie im vorigen Versuch. Die der analeptischen Wirkung folgenden Krämpfe blieben — ein Ausdruck der langanhaltenden Wirkung — bei Pikrotoxin am längsten bestehen.

Urethan.

Äthylurethan, von den Larven offenbar auch sehr gut resorbiert, aber erheblich weniger wirksam als Avertin, führte 1 : 5000 selbst in 3 Stunden nicht zur Lähmung, 1 : 2500 lähmte in rund 30, 1 : 1000 in 18, 1 : 500 in 13—14, 1 : 100 in $6^1/_2$—$7^1/_2$, 1 : 50 in 3—$3^1/_2$ Min.

Die Verweildauer der Larven in den Urethanlösungen wurde ähnlich gestaffelt wie in den Avertinversuchen.

Da die Ergebnisse im großen und ganzen mit denen der Avertinversuche übereinstimmten, wird auf eine eingehende Besprechung aller Urethanversuchsreihen verzichtet und nur der Versuch mit der höchsten Urethankonzentration 1 : 50 näher erörtert.

Urethan 1 : 50: Lähmung in 3 (frühestens 3, spätestens $3^1/_2$) Min. Einwirkungsdauer 10 Min. = > 300% der Lähmungszeit. Bei dieser „schweren" Urethanvergiftung, aus der die spontane Erholung in Wasser erst nach 92 Min. erfolgte, führte Pikrotoxin 1 : 400 bzw. 1 : 300 in 33 bzw. 32, Samandarin 1 : 10000 bzw. 1 : 5000 in 30 bzw. 28, Cardiazol 1 : 500 bzw. 1 : 250 in 39 bzw. 38 Min. zur analeptischen Wirkung.

Hier waren also Samandarin und Pikrotoxin (wie bei dem Versuch mit Avertin 1 : 1000) dem Cardiazol deutlich überlegen, aber bei allen drei Analeptika war die Wirkungsbreite sehr klein, bei Cardiazol allerdings immer noch etwas größer als bei Pikrotoxin; Samandarin hatte hier die geringste Wirkungsbreite. Die Verzögerung des Krampfeintrittes durch Urethan war dagegen bei Cardiazol (39 : 14 bzw. 38 : 8) ganz erheblich, bei Samandarin immer noch deutlich (32 : 23 bzw. 29 : 8), während sie bei Pikrotoxin 1 : 400 praktisch fehlte (36 : 34) und bei 1 : 300 unbedeutend war (35 : 26 Min.). Wie in dem Versuch mit Avertin 1 : 1000 blieben auch hier die im Anschluß an die analeptische Wirkung auftretenden Krämpfe bei Pikrotoxin weitaus am längsten bestehen, und zwar *4—5 Stunden* gegenüber 90—100 Min. bei Samandarin und 80—90 Min. bei Cardiazol. Hier kommt also wiederum die langanhaltende Wirkung des Pikrotoxins klar zum Ausdruck.

Veronal.

Veronal, parenteral am Warmblüter (Maus, Ratte) wirksamer als Avertin, erzeugte im Larvenversuch (Einsetzen der Tiere in die Veronallösung) erst in hohen (1 : 250) bis höchstens (1 : 180) Konzentrationen* völlige Lähmung. Daß die scheinbar so geringe Wirksamkeit bei Salamanderlarven hauptsächlich auf der schlechten Resorption des Veronals beruht, geht am besten aus unseren Fischversuchen (s. Seite 14) hervor, in denen Veronal bei gleicher Versuchsanordnung noch weniger wirksam war als bei den Salamanderlarven, aber parenteral (intraperitoneal) als Veronalnatrium zugeführt, schon mit 0,3 mg/1 g Fisch in etwa 30 Min. vollständige Lähmung erzeugte.

Veronal 1 : 250: Lähmung nach 102 (frühestens 75, spätestens 125) Min. Die im Gegensatz zu den Avertin- und Urethanversuchen auffallend große Streuung der Werte für die Lähmungszeiten trat nur bei niedrigeren Konzentrationen auf, bei Veronal 1 : 200 war völlige Lähmung der Larven in 110—120 Min., und bei Veronal 1 : 180 (s. nächsten Versuch) mit ebenso geringer Streuung wie bei den Avertin- und Urethanversuchen zu erzielen.

Die Einwirkungsdauer betrug in diesem Versuch 150 Min., also nur 50% über die durchschnittliche Lähmungszeit hinaus. Es lag hier somit eine verhältnismäßig „leichte" Veronalvergiftung vor. Trotzdem trat die spontane Erholung in Wasser, der Natur der Veronalwirkung entsprechend, erst nach 170 Min. ein.

* Stärkere Lösungen als 1 : 180 konnten wegen der Schwerlöslichkeit des Veronals nicht, und auch diese nur durch Erhitzen, hergestellt werden. Nach Auflösen des Veronals wurde abgekühlt und kräftig mit Luft durchgeschüttelt.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind aus Abb. 2 A zu entnehmen. Auffallend stark war die analeptische Wirkung des Cardiazols ($3^1/_2$ bzw. 3 bzw. $^1/_2$ Min. gegen 170 Min. bei den Veronalkontrollen). Ebenfalls sehr kräftig — und gut übereinstimmend mit dem Wert eines ähn-

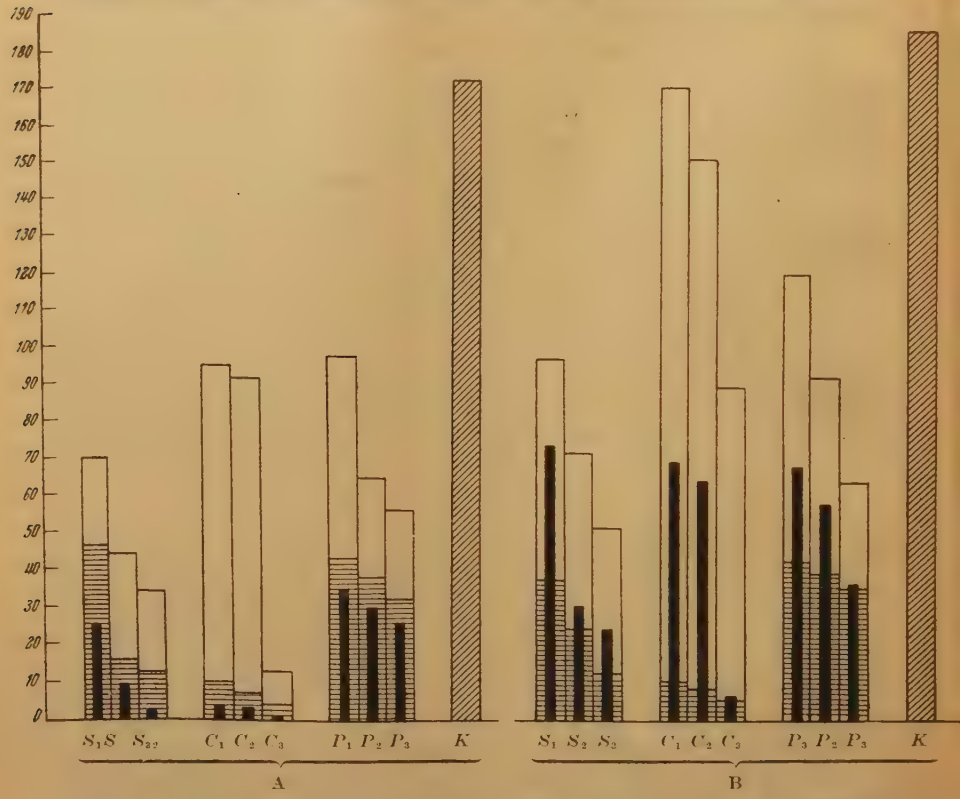


Abb. 2 A u. B. Versuch an Salamanderlarven. Vorbehandlung mit Veronal. A Veronal 1 : 250, Lähmung nach 102 Min., Einwirkungsdauer 150 Min., Temperatur 19° C, pH 7,7; B Veronal 1 : 180, Lähmung nach $45^1/_2$ Min., Einwirkungsdauer 90 Min., Temperatur 18° C, pH 7,6. Bei A wie bei B: S_1 Samandarin 1 : 15000, S_2 Samandarin 1 : 10000, S_3 Samandarin 1 : 5000; C_1 Cardiazol 1 : 750; C_2 Cardiazol 1 : 500; C_3 Cardiazol 1 : 250; P_1 Pikrotoxin 1 : 500; P_2 Pikrotoxin 1 : 400; P_3 Pikrotoxin 1 : 300; K Wasser (Veronalkontrollen). Bedeutung der Säulen: *schwarz* Zeit bis Eintritt der analeptischen Wirkung; *farblos* Zeit bis Eintritt der Krämpfe bei den Veronaltieren; *schraffiert* dasselbe bei den nicht mit Veronal vorbehandelten Analeptikumkontrollen; *grau* spontane Erholung der Veronaltiere in Wasser.

lichen Versuches von O. GESSNER und W. ESSER[1] — wirkte Samandarin 1 : 10000 analeptisch, auffallend stark (stärker als Cardiazol 1 : 500) wirkte Samandarin 1 : 5000, während Samandarin 1 : 15000 eine immer noch stärkere analeptische Wirkung als Pikrotoxin in allen Konzentrationen entfaltete. Die Wirkungsbreite war bei den beiden schwächeren Cardiazolkonzentrationen außerordentlich groß, bei allen Samandarin-

konzentrationen noch sehr erheblich, und auch bei Pikrotoxin, besonders bei der schwächeren Konzentration, noch recht groß; relativ klein dagegen war die Wirkungsbreite bei der höchsten Cardiazolkonzentration.

Die Verzögerung des Krampfeintrittes durch Veronal war wie die Wirkungsbreite bei Cardiazol am größten, bei Samandarin und Pikrotoxin wesentlich geringer, bei Pikrotoxin war sie bei der schwächsten Konzentration aber immer noch erheblich (97 : 43) und im ganzen größer als bei Samandarin.

Das Verschwinden der Krämpfe („Erholung") bei den Tieren der Hauptreihe ging am schnellsten bei den beiden niedrigeren Cardiazolkonzentrationen vor sich, bei Cardiazol 1 : 250 war sie wesentlich verzögert und bei den beiden anderen Analeptika dauerte die Erholung über 2—3 Stunden.

Veronal 1 : 180: Lähmung in $45^1/_2$ (frühestens 44, spätestens $46^1/_2$) Min. Einwirkungsdauer 90 Min., also 200% der Lähmungszeit. Spontane Erholung in Wasser (Veronalkontrollen) erst nach 3 Stunden. Hier lag also eine „schwere" Veronalvergiftung vor.

Ergebnis s. Abb. 2, B: Entsprechend der höheren Veronalkonzentration und der längeren Dauer der Veronaleinwirkung trat bei allen Analeptika die Weckwirkung erheblich später auf als im Versuch mit Veronal 1 : 250 (Abb. 2 A). Auffallend stark war aber das Zurückgehen der analeptischen Wirkung des Cardiazols in den beiden schwächeren Konzentrationen. Die Wirkung der stärksten Cardiazolkonzentration zeigt, daß es sich hierbei um eine Dosierungsfrage handelt. Wie bei der menschlichen Veronalvergiftung klinisch ermittelt, muß entsprechend der zunehmenden Tiefe der Veronalvergiftung die Cardiazolgabe wesentlich gesteigert werden.

Auffallend stark war aber andererseits die an der Cardiazolwirkung gemessene relative Verstärkung der Samandarin- und Pikrotoxinweckwirkung, besonders bei den beiden höheren Samandarinkonzentrationen und bei der höchsten Pikrotoxinkonzentration. Samandarin war in den beiden höheren Konzentrationen dem Pikrotoxin erheblich überlegen.

Die Wirkungsbreite aller Analeptika war in diesem Versuch geringer als bei Veronal 1 : 250, weil die Abnahme der Weckwirkung (Zunahme der schwarzen Säulen) verhältnismäßig größer war als die Verzögerung des Krampfeintrittes (Zunahme der farblosen Säulen). Aber auch hier war die Wirkungsbreite bei Cardiazol noch sehr erheblich und ganz bedeutend größer als bei Samandarin und Pikrotoxin. Bei Samandarin war die Wirkungsbreite in der schwächsten Konzentration kleiner als bei den beiden höheren Konzentrationen. Bei Pikrotoxin lagen die Verhältnisse umgekehrt, im übrigen war die Wirkungsbreite bei diesen beiden Analeptika annähernd gleich groß und immer noch erheblich.

Die Verzögerung des Krampfeintrittes durch das Veronal war im Vergleich zu den Analeptikakontrollen (schraffierte Säulen) naturgemäß noch größer als bei Veronal 1 : 250, und zwar am größten wiederum bei Cardiazol in allen Konzentrationen.

Das Verschwinden der Krämpfe („Erholung") bei den Veronaltieren ging in diesem Versuch beim Cardiazol noch schneller als bei der schwächeren Veronalkonzentration vor sich, was sich durch das verhältnismäßig rasche Abklingen der Cardiazolwirkung und das Nach- oder Wiederwirken des Veronals erklärt. Bei Samandarin und Pikrotoxin hielten die Krämpfe dagegen wesentlich länger an, worin die Nachhaltigkeit der Wirkung dieser Analeptika erneut zum Ausdruck kam.

B. Versuche an Stichlingen*.

Auf die Verwendbarkeit von Fischen zur Prüfung der analeptischen Wirksamkeit im Narkoseversuch wurde schon — wie wir glauben, erstmalig — von O. Gessner und A. Behrends[29] vor über 14 Jahren hingewiesen. Wegen der von O. Gessner[30] schon vor 18 Jahren betonten Vorzüge der Salamanderlarvenmethode verzichteten wir indessen bisher auf die Benutzung von Fischen zu solchen Versuchen.

Wenn wir jetzt im Rahmen der vorliegenden vergleichend-pharmakologischen Untersuchungen Fische mit heranzogen, so geschah dies einerseits, weil vor einigen Jahren Fr. E. Koch[31] Fische (Stichlinge) „zur Prüfung analeptischer Wirkstoffe im Narkoseweckversuch" benutzt und in seiner Arbeit, zu der O. Gessner[32] schon anderen Ortes Stellung genommen hat, gleich eingangs behauptet hat, daß man zur Prüfung analeptisch wirksamer Substanzen bisher ausschließlich Warmblüter verwendet habe, und andererseits, um noch einmal die Brauchbarkeit der Salamanderlarven- und der Fischmethode vergleichen zu können.

Wie Fr. E. Koch[31] verwendeten wir (im ganzen 355) Stichlinge (Gasterosteus aculeatus) zu unseren Fischversuchen.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den Salamanderlarvenversuchen, insbesondere die Art der Vorbehandlung und die Einteilung jeder Versuchsreihe in Hauptreihe und Kontrollreihen I—III. Auch die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse (Abb. 3) wurde in derselben Weise wie in Abb. 1 und 2 vorgenommen.

Abweichend war — entsprechend der Größe und dem höheren Sauerstoffbedürfnis** der Fische — die Verwendung größerer Schalen mit 200 statt nur 20 ccm Versuchsflüssigkeit.

* Diese Versuche wurden von O. Gessner und E. Müller in den Wintermonaten 1942/43 durchgeführt und April/Mai 1944 von O. Gessner ergänzt.

** Andererseits ist das Sauerstoffbedürfnis der Stichlinge nicht so groß, daß dauernde Durchlüftung nötig wäre. Nach Vorversuchen konnten wir sogar ohne Schaden für die Fische ganz auf die Durchlüftung der Versuchsflüssigkeit verzichten.

[30] Gessner, O.: Narkose u. Anästh. **1929**, H. 5, 129. — [31] Koch, Fr. E.: Z. exper. Med. **108**, 695 (1941). — [32] Gessner, O.: Z. exper. Med. **110**, 601 (1942).

Abweichend war ferner — nur bei einem Teil der Veronalversuche — aus weiter unten zu erörternden Gründen die parenterale Zufuhr des Veronals anstelle des Einsetzens der Fische in Veronallösungen.

Geändert werden mußten endlich — wegen der anderen, teils geringeren, teils größeren Empfindlichkeit der Fische — die Konzentrationen (bzw. bei der parenteralen Zufuhr die Dosen) der Narkotika und der Analeptika.

So fanden wir als lähmende Schwellenkonzentration für die Stichlinge von Avertin 1 : 15000 (Salamanderlarven 1 : 40000), von Urethan 1 : 700 (Salamanderlarven zwischen 1 : 5000 und 1 : 2500) und von Veronal 1 : 200 (Lähmung in 104 Min.), bei Salamanderlarven 1 : 250 (Lähmung in 102 Min.). Da die Lähmung durch Veronal 1 : 200 bei den Stichlingen aber unvollkommen, bei den Salamanderlarven durch 1 : 250 aber vollkommen war, erwiesen sich somit die Stichlinge gegenüber den 3 Narkotika erheblich weniger empfindlich als die Salamanderlarven. Umgekehrt lagen die Verhältnisse bei den Analeptika, gemessen an den Krampfschwellenkonzentrationen: Samandarin $1 : 3 \times 10^6$ (bis $1 : 4 \times 10^6$) gegen 1 : 70000, Cardiazol 1 : 5000 gegen 1 : 2000, Pikrotoxin 1 : 50000 gegen 1 : 2000 bei den Salamanderlarven.

Samandarin war demnach beim Stichling bei der gewählten Zufuhr 60—80mal (bei den Salamanderlarven nur 35mal) wirksamer als Pikrotoxin. Dies deutete darauf hin, daß beim Stichling die Resorption des Pikrotoxins noch schlechter als bei den Salamanderlarven und, wegen der starken Panzerung der Körperoberfläche praktisch wohl hauptsächlich durch die Kiemenoberfläche vor sich gehen würde. Parenterale (intraperitoneale) Zufuhr von Pikrotoxin und Samandarin beim Stichling bestätigte dies, indem Pikrotoxin schon mit 1,4 γ/1 g nach heftigsten Krämpfen zum Tode führte und sich damit noch wirksamer erwies als Samandarin, dessen D.l.m. für den Stichling intraperitoneal etwa 1,5—2 γ/1 g, betrug.

Schon bei den Vorversuchen zur Feststellung der lähmenden Schwellenkonzentrationen der Narkotika und der Krampfschwellenkonzentrationen der Analeptika fiel, besonders bei den Narkotika, die im Vergleich zu den Salamanderlarvenversuchen erheblich größere Streuungsbreite der Zeitwerte auf, die sich dann auch bei der Auswertung der Hauptversuche störend bemerkbar machte und übrigens auch von E. Koch[31] schon beobachtet und ausdrücklich hervorgehoben wurde.

In der Hauptsache dürfte diese größere Streuungsbreite der Werte bei den Stichlingen auf den durch verschiedene Größe und verschiedenes Alter der Fische bedingten Reaktionsunterschieden beruhen, ein Nachteil, der sich auch durch sorgfältiges Auswählen der Fische nur unvollkommen beheben läßt. Überdies aber wird die individuelle Empfindlichkeit der Fische immer größer sein müssen als bei den von

demselben Muttertier stammenden Salamanderlarven, bei denen außerdem naturgemäß der Nachteil der Alters- und Größenunterschiede ganz wegfällt und als Hauptvorzug der Salamanderlarvenmethode weitestgehende Übereinstimmung der individuellen Giftempfindlichkeit erreicht werden kann.

Selbstverständlich könnte man auch Stichlinge aus den Eiern desselben Muttertieres aufziehen, aber dies würde für jedes Stichlingspaar ein besonderes Aquarium* erfordern und dadurch sehr umständlich werden, ganz abgesehen davon, daß dann die Zahl der so erhaltenen Geschwistertiere erheblich geringer wäre als beim trächtigen Feuersalamanderweibchen, aus dem man — allerdings nur von Ende September bis Mitte April — die Larven (meist 30—40) herausnehmen und schon am gleichen Tage verwenden kann, während die Fischbrut erst mühsam und zeitraubend aufgezogen werden müßte. Wenn man durchaus Fische verwenden will, sollte man dann zweckmäßigerweise solche mit großer und lebendig geborener Nachkommenschaft wählen, etwa die in der Aquarienfischzucht beliebten Millionenfischchen (Girardinus guppyi**), die von uns zu Untersuchungen bereits verwendet worden sind.

Bei den Stichlingsversuchen besteht aber noch der weitere Nachteil, der bei den Ergänzungsversuchen Mai 1944 (also zu der in diesem Jahre verspäteten Laichzeit dieser Fische) bemerkt wurde. Es fiel bei diesen Versuchen (mit Samandarin, Cardiazol und Pikrotoxin) auf, daß von einer Reihe derselben Konzentration eines dieser Krampfgifte ausgesetzter Stichlinge ein Teil, ziemlich gut übereinstimmend, wesentlich früher als der andere Teil, und dieser in den Zeitwerten wiederum annähernd übereinstimmend, Krämpfe bekam. Bei näherer Betrachtung und Wiederholung dieser Versuche unter Berücksichtigung des Geschlechtes zeigten sich die im Hochzeitskleid prangenden Männchen erheblich krampfgiftempfindlicher als die noch den Laich tragenden Weibchen. An sich ist es nicht neu, daß das Geschlecht von Tieren die Empfindlichkeit gegen Pharmaka beeinflussen kann, aber diese Tatsache bedingt zum mindesten einen weiteren Nachteil der Fischmethode. Außerdem besteht die — von uns bisher nicht geprüfte — Möglichkeit, daß die Geschlechter des Stichlings auch außerhalb der Laichzeit (äußere Unterscheidung der Männchen und Weibchen dann sehr schwierig!) besteht.

Die von E. KOCH[31] angegebenen Kriterien zur Feststellung der narkotischen Wirkung erwiesen sich als ebenso brauchbar wie die von uns angegebenen Lähmungszeichen bei den Salamanderlarven, allerdings muß man hinsichtlich des Zeichens für völlige Lähmung — Aufhören der Bewegungen (des „Fächelns") der Brustflossen — *genau* beobachten, um nicht nach bereits eingetretener Lähmung der *aktiven* Flossenbewegung die durch die Bewegung der benachbarten Kiemendeckel („Kiemenbewegung" bei FR. E. KOCH) bedingte *passive*, wenn

* Die Zucht von Stichlingen ist übrigens nach eigenen Erfahrungen nicht besonders einfach und erfordert vor allem nicht zu kleine und möglichst dicht bepflanzte Becken.

** bzw. Poecilia reticulata *Ptrs.*

auch sehr schwache Bewegung der Brustflossen noch als aktive Bewegung der Brustflossen zu deuten.

Der Eintritt der analeptischen Wirkung und der Krampfbeginn ist bei den Fischen praktisch genau so gut feststellbar wie bei den Salamanderlarven, wobei wir im Gegensatz zu Koch als Zeitpunkt der analeptischen Wirkung nicht schon das Wiederbewegen der Brustflossen, sondern erst das spontane Wiederumherschwimmen der Fische in der Schale (wie bei den Salamanderlarven) und als Krampfeintritt die Zeit des Ausbruchs des ersten heftigen, das ganze Tier in der Flüssigkeit umherwirbelnden und oft über die Flüssigkeitsoberfläche hinausschleudernden allgemeinen Krampfanfalles gewertet haben.

Von den Analeptika verwendeten wir folgende Konzentrationen: Samandarin 1 : 250000, 1 : 100000, 1 : 50000; Cardiazol 1 : 2500, 1 : 1000, 1 : 500; Pikrotoxin 1 : 10000, 1 : 5000, 1 : 2000; diese Konzentrationen entsprachen sich in der angeführten Reihenfolge etwa in ihrer Krampfwirksamkeit.

Avertin.

Avertin 1 : 2500: Lähmung in 4 (frühestens $2^1/_2$, spätestens $5^1/_2$) Min.; Einwirkungsdauer 15 Min., also etwa 350—400% der Lähmungszeit; Temperatur 20° C, p_H 7,4.

Bei dieser nach Konzentration und Einwirkungsdauer als „schwer" zu bezeichnenden Avertinvergiftung, die etwa der in Abb. 1 B dargestellten Avertinvergiftung bei Salamanderlarven entsprach und bei der die spontane Erholung der Avertintiere in Wasser 36 Min.* betrug, trat die analeptische Wirkung mit steigender Konzentration der Analeptika bei Cardiazol (18, 10, 8 Min.) und Pikrotoxin (11, 16, 10 Min.) annähernd gleich schnell ein, dagegen etwas langsamer bei Samandarin (22, 20, 14 Min.). Die Wirkungsbreite war wie bei den Larvenversuchen am größten bei Cardiazol (1 : 2500), immer noch erheblich bei Cardiazol 1 : 1000 und bei Pikrotoxin 1 : 10000, am geringsten bei den höheren Samandarin- und Pikrotoxinkonzentrationen. Ähnlich verhielt es sich mit der Verzögerung des Krampfeintrittes durch Avertin. Verschwinden der Krämpfe (Erholung) am schnellsten bei Cardiazol, gleich langsam bei den Samandarin- und Pikrotoxintieren, die wie die entsprechenden Analeptikakontrollen zugrunde gingen.

Urethan.

Urethan 1:100: Lähmung in $3^3/_4$ (frühestens 2, spätestens 6) Min.; Einwirkungsdauer 15 Min., also etwa 400% der durchschnittlichen Lähmungszeit; Temp. 19° C, p_H 7,4.

Bei dieser „Urethanvergiftung" (spontane Erholung der Tiere in Wasser nach 33 Min.) trat die analeptische Wirkung wieder am schnellsten in Cardiazol (8, 5, 4 Min.), deutlich später in Samandarin (14, 10, 8 Min.) und noch langsamer in Pikrotoxin (20, 15, 7 Min.) ein. Es

* Die spontane Erholung trat bei den Fischen also wesentlich schneller als bei den Salamanderlarven ein (117 Min., s. Abb. 1 B).

entsprachen sich somit ungefähr in ihrer analeptischen Wirksamkeit Cardiazol 1 : 2500, Samandarin 1 : 50000 und Pikrotoxin 1 : 2000. Wirkungsbreite und Verzögerung des Krampfeintrittes ähnlich wie bei dem oben beschriebenen Avertinversuch. Ein Vergleich mit dem in der Lähmungszeit entsprechenden Salamanderlarvenversuch war nicht möglich, da die Einwirkungsdauer bei diesen Versuchen zu sehr von einander abwich.

Veronal.

Wie bei den Salamanderlarven wurde auch bei den Stichlingen besonderer Wert auf die Veronalversuche gelegt.

a) Stichlinge, eingesetzt in Veronallösungen.

Bei dieser bei den Salamanderlarven durchweg gewählten Applikation entstand für die Fischversuche, wie schon erwähnt (S. 11) dadurch eine neue Schwierigkeit, daß selbst die bei Zimmertemperatur höchstmögliche Konzentration 1 : 180 bei den Stichlingen innerhalb 2 Stunden keine vollständige Lähmung erzeugte, sondern nur eine mehr oder weniger weit gehende Anlähmung zwischen 99 und 123 Min. hervorrief, die, obwohl die spontane Erholung in Wasser ungefähr 7 Stunden dauerte, zu einem einwandfreien Weckversuch als Grundlage nicht dienen konnte.

b) Stichlinge mit intraperitonealer Veronalzufuhr.

Wir entschlossen uns daher, das Veronal parenteral zu verabreichen. Nach Vorversuchen eignete sich hierzu eine 1%ige Veronal-Natriumlösung, von der 0,03 ccm (= 0,3 mg) je 1 g Fisch* intraperitoneal** eingespritzt, durchschnittlich in etwa 30 Min. zur vollständigen Lähmung führte. Eine Stunde nach der Injektion (Einwirkungsdauer somit rund 200% der Lähmungszeit) erfolgte Einsetzen in die Analeptikalösungen. Die Ergebnisse dieses Dezember 1942 ausgeführten Versuches sind aus Abb. 3A zu ersehen.

Im Vergleich zu der langen Dauer der spontanen Erholung war die analeptische Wirkung bei Cardiazol außerordentlich stark, aber auch bei Pikrotoxin und Samandarin noch sehr kräftig. Auch die Wirkungsbreite und die Verzögerung des Krampfeintrittes gegenüber den nicht narkotisiert gewesenen Analeptikakontrollen war bei Cardiazol und bei Pikrotoxin außerordentlich groß, Krämpfe traten (infolge der nachhaltigen Veronalwirkung) hier überhaupt nicht auf, während sie sich bei Samandarin, dessen analeptische Wirkung auch noch gut, aber

* Stichlinge von 0,9—1,5 g Gewicht.

** Um Ausfließen der Lösung zu vermeiden, wurde eine ganz feine Nadel (Nr. 25!) und um möglichst genau dosieren zu können, eine $^1/_4$ ccm-Tuberkulinspritze verwendet, bei der ein Teilstrich = 0,005 ccm entsprach.

deutlich schwächer als die von Cardiazol und Pikrotoxin war, erst nach 280 Min. (gegen 103 Min. bei den Kontrollen) einstellten. Im Gegensatz zu der Avertinvergiftung führten hier die an sich tödlichen Samandarin- und Pikrotoxinkonzentrationen nicht mehr zum Tode.

Nicht zu ersehen aus der Abbildung, aber aus dem Protokoll klar hervorgehend war die Tatsache, daß die Streuungsbreite schon bei der

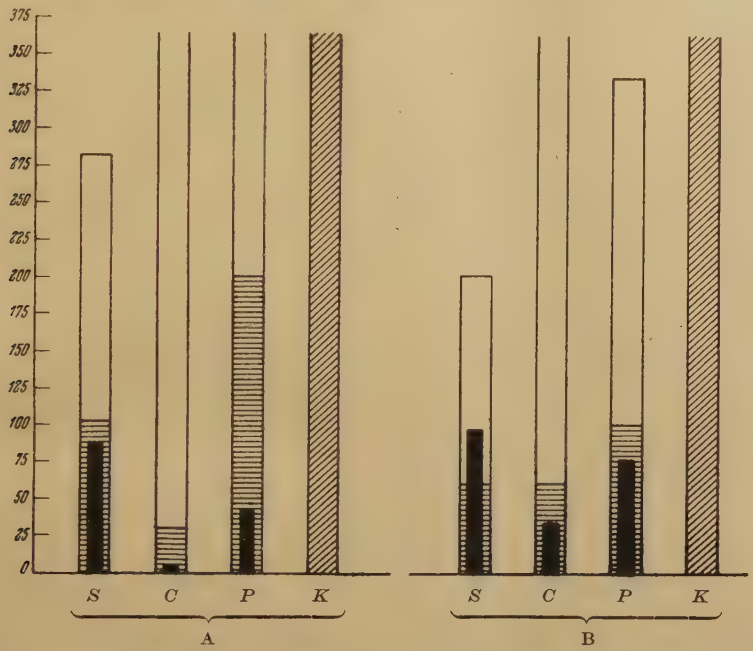


Abb. 3 A u. B. Versuch an Stichlingen. Vorbehandlung mit Veronal. A Veronalnatrium 1 : 100, 0,03 ccm/1 g i.p.; Lähmung in 30 Min.; Umsetzen in Analeptika 1 Stunde post inj. *S* Samandarin 10^{-5}; *C* Cardiazol 1 : 1000; *P* Pikrotoxin 1 : 5000; *K* Wasser (spontane Erholung); B Veronalnatrium 1 : 100, 0,03 ccm/1 g i.p.; Lähmung in 15 Min.; Umsetzen in Analeptika 1 Stunde post inj.; *S* Samandarin 10^{-6}; *C* Cardiazol 1 : 2500; *P* Pikrotoxin 1 : 5000; *K* Wasser (spontane Erholung). Bedeutung der Säulen: *schwarz* Zeit bis Eintritt der analeptischen Wirkung; *farblos* Zeit bis Eintritt der Krämpfe bei den Veronaltieren; *schraffiert* dasselbe bei den nicht mit Veronal vorbehandelten Analeptikumkontrollen; *grau* spontane Erholung der Veronaltiere in Wasser.

Veronallähmung (30 Stichlinge) sehr groß war. Der Lähmungseintritt erfolgte nach 17—52 Min. (mit allerdings 17 von 30 Werten zwischen 25 und 35 Min.). Dies kann nicht allein durch die verschiedene Größe der Tiere (0,9—1,5 g) und durch Dosierungsfehler (Schwierigkeit des genauen Abmessens der notwendigen *kleinen* Flüssigkeitsmenge selbst mit der benutzten feinen Spritze) erklärt werden, sondern geht sicher zu einem großen Teil auch zu Lasten der bei den Fischen aus den oben besprochenen Gründen *größeren Schwankungen der individuellen Giftempfindlichkeit.*

Die Streuungsbreite der Werte war aber nicht nur bei der Lähmungszeit nach der Veronalinjektion, sondern auch bei den je 5 Stichlingen, die in dieselbe Konzentration der 3 Analeptika eingesetzt wurden, unverhältnismäßig groß. So schwankten die Werte für den Eintritt der analeptischen Wirkung bei Samandarin zwischen 40 und 95, bei Cardiazol zwischen 29 und 67 Min., und bei der spontanen Erholung in Wasser (Veronalkontrollen) zwischen $2^1/_2$ und weit über 6 Stunden.

Bei einem weiteren, Mai 1944 mit gleicher intraperitonealer Veronalzufuhr und -dosierung durchgeführten Versuch trat die vollständige Lähmung der Stichlinge* bereits nach durchschnittlich 15 Min. ein, und auch hier war die Streuung der Werte (10—27 Min.) sehr erheblich. Da trotz des schnelleren Lähmungseintrittes die Tiere erst 1 Stunde nach der Veronalinjektion in die Analeptikalösungen eingesetzt wurden, hier also eine „besonders schwere" Veronalvergiftung vorlag, war es nicht verwunderlich, daß die analeptische Wirkung (s. Abb. 3B) in dieser Versuchsreihe bei allen 3 Analeptika, insbesondere auch bei Cardiazol, bedeutend später eintrat als in dem ersten Versuch (Abb. 3A).

Außerdem gingen in dieser Versuchsreihe etwa 20% der Stichlinge (der Hauptreihe *und* der Kontrollreihe I) ungefähr 90 Min. nach der Injektion des Veronals ein. Die Veronalempfindlichkeit war somit bei den Stichlingen zu dieser Jahreszeit weit höher als bei dem oben beschriebenen Versuch vom Dezember 1942. Um so höher ist daher bei den überlebenden Tieren die Wirkung der Analeptika auf diese „sehr schwere" Veronalvergiftung zu bewerten.

Die Wirkungsbreite war auch in diesem Versuch bei Cardiazol (1 : 2500 statt 1 : 1000 im vorigen Versuch) am größten, bei Pikrotoxin noch sehr erheblich, bei Samandarin am kleinsten, aber immerhin noch bedeutend. Ähnlich verhielt es sich hier mit der Verzögerung des Krampfeintrittes durch die Veronalnarkose gegenüber den Analeptikakontrollen.

III. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die vorliegenden vergleichend-pharmakologischen Untersuchungen über die *analeptische Wirkung von Samandarin, Pikrotoxin und Cardiazol* an Salamanderlarven und Fischen (Stichlingen) haben gezeigt, daß die beiden erstgenannten starken Krampfgifte mit verhältnismäßig langsamem Wirkungseintritt und langer Wirkungsdauer sich auch in ihrer analeptischen Wirkung sehr nahestehen. Beim Vergleich in ihrer Krampfwirksamkeit etwa sich entsprechender Konzentrationen war an Salamanderlarven bei der leichten und mittelschweren Avertinvergiftung, bei allen untersuchten Graden der Urethanvergiftung, sowie bei der leichteren *und* bei der schweren Veronalvergiftung Samandarin

* Gewicht 0,85—1,12 g.

in der analeptischen Wirkung, gemessen an der Zeit bis zum Eintritt der Weckwirkung, dem Pikrotoxin sogar überlegen, bei der schweren Avertinvergiftung blieb dagegen die analeptische Wirkung des Samandarins hinter der des Pikrotoxins zurück.

Bei den Fischen verhielt es sich hinsichtlich der Aufhebung der Avertin- und Urethannarkose ebenso, während bei den veronalvergifteten Stichlingen die analeptische Wirkung des Pikrotoxins schneller als die des Samandarins eintrat.

Cardiazol erwies sich an Salamanderlarven *und* an Fischen bei den leichteren *und* mittelschweren Vergiftungen durch Avertin und bei allen Vergiftungen mit Urethan, bei den leichteren und, in der höchsten Konzentration, auch bei den schweren Vergiftungen mit Veronal dem Samandarin und dem Pikrotoxin in der Schnelligkeit des Eintrittes der Weckwirkung unübertroffen überlegen, wurde aber bei der schweren Avertinvergiftung der Salamanderlarven in beiden Konzentrationen sowie bei der schweren Veronalvergiftung von Pikrotoxin erheblich übertroffen und von Samandarin in der schwächeren Konzentration erreicht, in den höheren Konzentrationen ebenfalls noch erheblich, hier sogar in noch größerem Ausmaß als von Pikrotoxin, übertroffen. Bei den Fischen wurde die entsprechend starke Avertinnarkose von Cardiazol und Pikrotoxin gleich schnell aufgehoben, während hier Samandarin in der analeptischen Wirkung etwas zurückblieb. Bei der Urethanvergiftung lagen die Verhältnisse ähnlich, nur daß hier bei der schweren Vergiftung der Fische Samandarin in der Weckwirkung das Pikrotoxin übertraf, beide aber dem Cardiazol noch deutlich unterlegen waren.

Sehr deutlich kam bei der Veronalvergiftung der Larven und der Stichlinge mit der Zunahme der „Schwere" der Vergiftungen (Zunahme von Konzentration und Dauer der Einwirkung) die relative, an den Salamanderlarven auch die absolute Steigerung des analeptischen Wirkungswertes von Pikrotoxin und besonders von Samandarin gegenüber Cardiazol zum Ausdruck: Der Abstand des als Analeptikum bei den Fischen auch bei der Veronalvergiftung in der Schnelligkeit des Wirkungseintrittes in allen Konzentrationen, bei den Larven bei schwerer Veronalvergiftung allerdings nur noch in der höchsten Konzentration führenden Cardiazols von den beiden anderen Analeptika Samandarin und Pikrotoxin verringerte sich mit zunehmender Schwere der Veronalvergiftung zusehends, die höchste Samandarinkonzentration erreichte die Cardiazolwirkung schon bei der leichteren Veronalvergiftung und übertraf das Pikrotoxin erheblich. Bei der schweren Veronalvergiftung wurde Cardiazol in den beiden schwächeren Konzentrationen von Samandarin stärker als von Pikrotoxin (bei den Fischen war Pikrotoxin wirksamer als Samandarin) erreicht bzw. übertroffen, nur die höchste Cardiazolkonzentration hatte noch eine und zwar weit überlegene Wirkung.

Hieraus ergibt sich für die Therapie einerseits, daß mit zunehmender „Schwere" der Vergiftung entsprechend dem wechselseitigen Antagonismus zwischen Narkotikum und Analeptikum Konzentration bzw. Dosis der Analeptika gesteigert und außerdem die Gabe und zwar bei dem kurz wirkenden Cardiazol öfter als bei Samandarin und Pikrotoxin, wiederholt werden muß. Die Konzentration bzw. die Dosis von Samandarin und Pikrotoxin kann aber auch ohne Schaden wesentlich gesteigert werden, sofern eine schwere Veronalvergiftung vorliegt: so zeigte sich bei unseren Fischversuchen, daß dieselben (an sich letalen) Samandarin- und Pikrotoxinkonzentrationen, die bei der schweren Avertinvergiftung trotz der antagonistischen Avertinwirkung zum Tode geführt hatten, schon bei der leichteren und erst recht bei der schweren Veronalvergiftung vertragen wurden. Auch G. Caizzone u. R. Rigano[15] hatten am Kaninchen ermittelt, daß mit steigender Luminaldosis die Pikrotoxindosen häufig bis zu an sich letalen Dosen gesteigert werden mußten, um die analeptische Wirkung zu erzielen, und auch gesteigert werden konnten, ohne die Tiere zu gefährden.

Aus den oben gegebenen Daten ergibt sich aber weiterhin, daß mit zunehmender „Schwere" der Vergiftungen, insbesondere bei der Veronalvergiftung, der Wirkungswert von Samandarin und Pikrotoxin zunehmen, der von Cardiazol dagegen abnehmen muß.

Die *Wirkungsbreite*, gemessen als zeitlicher Abstand zwischen dem Eintritt der analeptischen Wirkung und dem Auftreten der Krämpfe, und gewertet als „*therapeutische*" Breite, war meist am größten bei Cardiazol, im übrigen an den Salamanderlarven bei Samandarin häufiger größer als bei Pikrotoxin, an den Fischen umgekehrt größer bei Pikrotoxin als bei Samandarin. Auffallenderweise war bei der schweren Avertinvergiftung an den Larven die Wirkungsbreite am größten bei Samandarin, und zwar ganz erheblich größer als bei Cardiazol, während gerade in diesem Versuch (Abb. 1b) die Wirkungsbreite von Pikrotoxin sehr klein war.

Dieser Steigerung der Wirkungsbreite des Samandarins bei der schweren Avertinvergiftung lag eine ganz wesentliche und bedeutend größere Verzögerung des Krampfeintrittes als bei Cardiazol und Pikrotoxin zugrunde, so daß geschlossen werden kann, daß Avertin gegenüber der Samandarinkrampfwirkung eine bedeutend stärkere antagonistische Wirkung entfaltet als gegenüber Cardiazol und Pikrotoxin. In Analogie zu der guten therapeutischen Wirkung von Avertin bei Wundstarrkrampf nach Läwen kann angenommen werden, daß sich diese antgonistische Avertinwirkung vor allem gegen die Angriffspunkte des Samandarins am Rückenmark (Gessner[3,4]) richtet, und bei Pikrotoxin und Cardiazol deswegen nicht in Betracht kommt, weil hier Angriffspunkte am Rückenmark nur eine ganz unbedeutende Rolle spielen oder ganz fehlen.

Bei der schweren Urethanvergiftung hatte Samandarin die geringste Wirkungsbreite. Im übrigen nahm — am deutlichsten bei der Veronalvergiftung — die Wirkungsbreite aller drei Analeptika dadurch mit zunehmender Schwere der Vergiftung (Zunahme der Konzentration bzw. der Dosis und vor allem der Einwirkungsdauer) erheblich ab, daß die Zeit bis zum Eintritt der Weckwirkung in viel höherem Maße zunahm als die durch die tiefere Narkose infolge des wechselseitigen Antagonismus bedingte weitere Herauszögerung des Krampfeintrittes.

Die *Dauer* (Nachhaltigkeit) der analeptischen Wirkung zeigte sich in der Zunahme der Zeitdauer bis zum Verschwinden der Krämpfe, also in der Länge der Erholungszeit, wobei auch die an den nicht narkotisierten Tieren gemessenen Krampferholungszeiten (schraffierte Säulen) vergleichsweise mit heranzuziehen waren. Hier stand Pikrotoxin an erster Stelle, und zwar durchweg, Samandarin blieb nicht weit hinter Pikrotoxin zurück, Cardiazol hatte gegenüber diesen beiden Analeptika eine ganz bedeutend, aus der Therapie bekannte, geringere Wirkungsdauer.

Für die Therapie menschlicher Schlafmittelvergiftungen, insbesondere schwerer Veronalvergiftungen ergibt sich daher die beste Aussicht auf Aufhebung der narkotischen Vergiftung durch die kombinierte Anwendung von Cardiazol und Pikrotoxin (oder Samandarin), wobei, wie oben schon erwähnt, die Cardiazolgaben häufiger zu wiederholen sind als die Pikrotoxindosen. Eine solche kombinierte Cardiazol-Pikrotoxintherapie, wie sie besonders von A. J. H. Ebes[20] schon vorgeschlagen wurde, wird nicht nur die Schnelligkeit des Wirkungseintrittes stark fördern, sondern auch die Dauer der analeptischen Wirkung wesentlich verlängern.

Die gute analeptische Wirkung des Samandarins in unseren Versuchen, insbesondere die Tatsache, daß Samandarin in der analeptischen Wirkung und auch in der Wirkungsbreite dem Pikrotoxin, insbesondere bei der Avertin- und Veronalvergiftung, überlegen war, ließe eine therapeutische Anwendung dieses Krampfgiftes entgegen der früheren vorsichtigen Stellungnahme von O. Gessner und W. Esser[1] durchaus, und zwar speziell bei Vergiftungen mit Avertin sowie mit Veronal und verwandten Barbituraten, erfolgversprechend erscheinen, aber praktisch dürfte die Heranziehung des Samandarins wenigstens vorläufig schon an den Schwierigkeiten der Beschaffung dieses noch nicht im Handel befindlichen tierischen Alkaloides scheitern.

Bezüglich der *Methode* haben die vorliegenden Untersuchungen gezeigt, daß zwar die zur Beurteilung der Narkose und der analeptischen Wirkung einschließlich des Krampfeintrittes gegebenen Kriterien bei den Salamanderlarven und bei den Fischen (Stichlingen) gleichwertig sind, daß aber die Fischmethode außer anderen Nachteilen (s. O. Gessner[32]) allein durch die auffallend große Streuungsbreite der Werte sowohl hinsichtlich des Narkoseeintrittes als auch bei der Weckwirkung der Salamanderlarvenmethode entscheidend unterlegen ist, bei der bei ausschließlicher Verwendung von Larven desselben Muttertieres die weitestgehende Übereinstimmung in der Reaktionsweise der einzelnen Tiere gegeben ist. Als weiterer Nachteil der Fischmethode hat sich neuerdings in unseren Versuchen eine erhebliche Beeinflussung der Reaktionsweise der Stichlinge während der Laichzeit durch das Geschlecht der Tiere ergeben, ein Nachteil, der bei der Salamanderlarvenmethode nicht vorhanden ist. Wollte man wegen des einzigen Nachteiles der Salamanderlarvenmethode (Zur-Verfügung-stehen der Larven nur in den Monaten September bis April) doch Fische heranziehen, so werden für diesen Fall die von einem Muttertier stammenden *Jung-*

fische lebendgebärender Fische vorgeschlagen, bei denen einerseits weitestgehende Übereinstimmung in der Reaktionsweise zu erwarten und die störende Reaktionsänderung durch die Laichzeit noch nicht zu fürchten ist.

Zusammenfassung.

Es wurden vergleichend-pharmakologische Untersuchungen über die analeptische Wirkung von Samandarin, Pikrotoxin und Cardiazol an mit Avertin, Urethan bzw. Veronal narkotisierten Feuersalamanderlarven und Fischen (Stichlingen) durchgeführt.

Nach Einwirkung der Narkotika wurden die Tiere in die Analeptikalösungen eingesetzt und der Eintritt der analeptischen (Weck-) Wirkung und der Krämpfe bestimmt sowie als Abstand beider Werte die Wirkungsbreite errechnet und als „therapeutische" Breite gewertet. Zur Feststellung der Wirkungsdauer der Analeptika diente die Bestimmung der Erholung (Verschwinden der Krämpfe nach Umsetzen der Tiere in Wasser). Zu jeder Hauptreihe liefen drei Kontrollreihen (Narkotikum-, Analeptikum- und Wasserkontrollen).

Samandarin und Pikrotoxin erwiesen sich in ihrer analeptischen Wirkung (Wirkungseintritt und Wirkungsdauer) nahe verwandt und ziemlich gleichwertig. Samandarin war dem Pikrotoxin in der Weckwirkung und in der Wirkungsbreite teils über-, teils unterlegen.

Cardiazol hatte in allen leichteren und mittelschweren Vergiftungen durch die drei Narkotika, bei der schweren Urethanvergiftung und, in der höchsten Konzentration, auch bei der schweren Veronalvergiftung unbestreitbar die stärkste analeptische Wirkung und auch die größte therapeutische Breite. Bei der schweren Avertinvergiftung und, in den schwächeren Konzentrationen, auch bei der schweren Veronalvergiftung wurde dagegen Cardiazol, auch in der Wirkungsbreite, von Samandarin und Pikrotoxin erreicht bzw. übertroffen, deren analeptischer Wirkungswert mit Tiefe und Dauer der Narkotikumwirkung („Schwere" der Vergiftung), insbesondere der Veronalvergiftung, erheblich zunahm.

In der Dauer der Wirkung war Pikrotoxin dem Cardiazol weit überlegen, das Samandarin gab in der Dauer der Wirkung dem Pikrotoxin nicht viel nach.

Es wurden Schlußfolgerungen aus den gefundenen Ergebnissen für die Therapie menschlicher Schlafmittelvergiftungen, insbesondere der Vergiftungen mit Veranol und wirkungsverwandten Barbitursäureabkömmlingen, besprochen.

Die Feuersalamanderlarvenmethode erwies sich der Fischmethode in der bisherigen Form (Verwendung von Stichlingen), insbesondere wegen der unverhältnismäßig großen Streuung der Werte für die narkotische und für die analeptische Wirkung bei den Fischen, weit überlegen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg
(Vorstand: Prof. Dr. F. Flury†).

Über den Einfluß der Ester von Monohalogenessigsäuren auf den Hefestoffwechsel.

Von

A. Fleckenstein.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Juli 1944.)

A. Einleitung und Fragestellung.

Die Wirkungen der freien Monohalogenessigsäuren auf die desmolytischen Prozesse der Zelle sind durch zahlreiche Arbeiten gut durchforscht. Von Lundsgaard[1] wurde bekanntlich als wesentlichster Einfluß dieser Substanzen an Hefe und tierischem Zellmaterial eine starke Hemmung der glykolytischen Umsetzungen gesichert. Seine Entdeckung wurde vielfach bestätigt, so an Hefe von Nilsson, Zeile und v. Euler[2], Kluyver und Hoogerheide[3], Ehrenrest[4], Boysen-Jensen[5] und anderen Autoren.

Die Monohalogenessigsäuren dürfen nun keineswegs als die einzigen Halogenverbindungen angesehen werden, die für den Zellstoffwechsel spezifisch toxisch sind. Offenbar stellen sie lediglich die am besten bekannten Vertreter aus einer großen Zahl ähnlich wirksamer, halogenhaltiger Substanzen dar. Diese den Monohalogenessigsäuren nahestehenden Stoffe bedürfen noch weiterer Bearbeitung hinsichtlich ihrer speziellen Wirkungsweise. Sie weichen nach unseren Ergebnissen sehr häufig vom Wirkungstyp der Monohalogenessigsäuren insofern ab, als die Hemmung der Zellatmung gegenüber der Glykolyseschädigung bedeutend überwiegen kann. Diese höhere Toxizität für die oxydativen Umsetzungen scheint vor allem bei solchen halogenhaltigen Zellgiften vorzuliegen, die durch eine starke Lipoid- und Oberflächenaffinität ausgezeichnet sind.

Es war daher zu prüfen, ob die bekannte spezifisch glykolysehemmende Wirkung der gut wasserlöslichen Monohalogenessigsäuren auch noch in ihren wenig wasserlöslichen, lipoid- und oberflächenaffinen Estern erhalten ist, oder ob die anderen Löslichkeits- und Adsorptionsbedingungen der Ester gleichzeitig auch die Art der Giftwirkung im Sinne einer stärkeren Toxizität für die Zellatmung beeinflußt. In der Literatur liegen bisher keine Versuche über den Einfluß dieser Ester auf die desmolytischen Prozesse weder bei Hefe noch an tierischem Zellmaterial vor.

B. Experimenteller Teil.

I. Langfristige Versuche an Hefe.

Im folgenden werden Versuche über die Stoffwechselwirkung der Äthylester von Monojodessigsäure, Monobromessigsäure und Monochloressigsäure auf Hefe im einzelnen besprochen.

Methode.

Für die Herstellung der Suspensionen wurde frische Bäckerhefe (Saarpfalz-Hefe A.-G., Ludwigshafen) im Verhältnis 1 g auf 200 ccm $^1/_{20}$ mol. prim. Na-Phosphatlösung verwendet und von diesen Aufschlämmungen je 60 ccm in kleine Erlenmeyer-Kolben gegeben. Die Ester wurden jeweils in alkoholischer Lösung zugesetzt, ohne dabei einen Alkoholgehalt von $1\,^0/_{00}$ in den Suspensionen zu überschreiten. Die Ansätze wurden ohne Glukosezusatz bei Zimmertemperatur von 18—20° unter Luftzutritt gehalten. Im Abstand von einzelnen Stunden wurden nun aus diesen vergifteten Ansätzen Proben entnommen und gleichzeitig mit den unvergifteten Kontrollen, die immer aus der gleichen Hefesuspension hergestellt waren, nach der Warburg-Methode untersucht.

a) Atmungsmessung. Die Tröge wurden mit je 2 ccm der Suspensionen = 10 mg Hefe + 0,2 ccm 8%ige Glukoselösung beschickt. CO_2-Absorption durch 0,1 ccm 5%iges KOH; O_2-Partialdruck etwa 700 mm Hg; Temperatur 30°; Schüttelgeschwindigkeit 120/Min. Nach 15 Min. Druck- und Temperaturausgleich, Messung des Sauerstoffverbrauchs über 30, bei einzelnen Hefen 40 Min.

b) Messung der anaeroben Glykolyse in Stickstoff. Die Tröge enthalten ebenfalls je 2 ccm der Aufschlämmung = 10 mg Hefe + 0,2 ccm 8%ige Glukoselösung. Temperatur 30°, Schüttelgeschwindigkeit 120/Min. Nach 15 Min. Druck- und Temperaturausgleich, Messung der CO_2-Produktion über 30 bzw. 40 Min.

Die aus der Ablesung nach 30 bzw. 40 Min. berechneten Werte für Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureproduktion der vergifteten Ansätze werden mit den normalen Werten der Kontrollen verglichen und die Verminderung des O_2-Verbrauchs bzw. der CO_2-Produktion in Prozent der Hemmung im Vergleich zu den normalen, unvergifteten Suspensionen umgerechnet. Die erhaltenen Prozentwerte, die stets das Mittel aus einigen immer nur wenig auseinanderliegenden Messungen sind, geben bei kurvenmäßiger Darstellung in Abhängigkeit von der Zeit den ganzen Vergiftungsablauf wieder. Als Einwirkungszeit gilt dabei jeweils die Spanne vom Zeitpunkt des Giftzusatzes bis zur Ablesung bei Versuchsende.

Die im folgenden berichteten Ergebnisse beruhen auf etwa 800 Messungen und wurden an 4 Bäckerhefen verschiedener Herkunft nochmals überprüft.

Ergebnis.

a) Äthylester der Monojodessigsäure.

Der Äthylester der Monojodessigsäure ist ebenso wie die freie Säure bzw. ihre Salze ein ungewöhnlich starkes Stoffwechselgift. Der spezielle Wirkungscharakter unterscheidet sich aber, wie bereits unsere ersten Versuche ergaben, ganz wesentlich von dem der freien Säure. Während diese bekanntlich die Glykolyse stets intensiver als die Atmung schädigt, stehen bei der Wirkung des Esters die Hemmungen der Zellatmung gerade in den höchsten Verdünnungen völlig im Vordergrund.

Bei Konzentration 1:2 Millionen war in den Hefesuspensionen nach $1^1/_2$ Stunden eine Atmungseinschränkung von 40% festzustellen, die sich im Laufe der nächsten Tage wieder langsam zurückbildete und nach 74 Stunden nur noch etwa 5% betrug. Die anaerobe Glykolyse blieb dagegen in den gleichen Ansätzen völlig unbeeinflußt.

Auch durch Konzentration 1:1 Million, wo der Sauerstoffverbrauch nach $1^1/_2$ Stunden um 45% herabgesetzt war, wurde die Glykolyse nur geringfügig geschädigt.

Die Konzentration 1:400000 senkte die Atmungsintensität nach $1^1/_2$ Stunden um fast 50%. Diese Hemmung der Atmung nahm ebenfalls in späteren Stunden nicht weiter zu, sondern zeigte regelmäßig einen langsamen Rückgang. Die Glykolyse wurde bei dieser Konzentration nach $1^1/_2$ Stunden nur um 14%, nach 64 Stunden um 24% eingeschränkt gefunden. Auch in Konzentration 1:200000 überwiegt die Hemmung der Zellatmung nach $1^1/_2$ Stunden mit 60% stark über die entsprechende Glykolysehemmung von 28%. Während jedoch die Einschränkung des Sauerstoffverbrauchs nicht weiter fortschritt und sogar leicht reversibel war, nahm die Schädigung der anaeroben Gärung in den gleichen Suspensionen weiter zu: sie betrug nach 22 Stunden 51%, nach 43 Stunden 71% und nach 72 Stunden 95%.

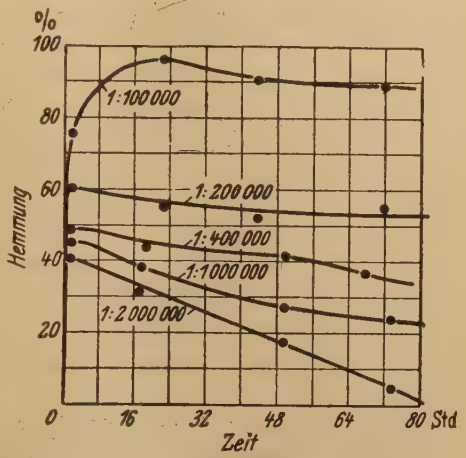


Abb. 1. Hemmung der Hefeatmung durch Jodessigsäureäthylester in verschiedenen Konzentrationen.

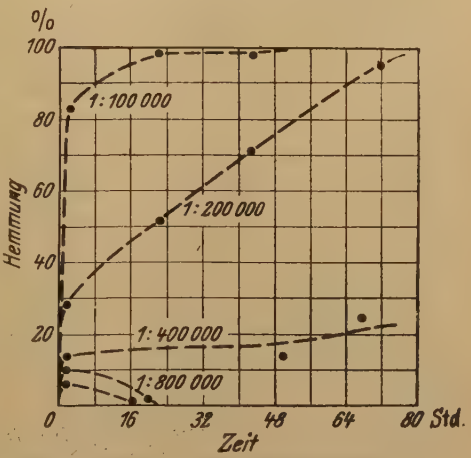


Abb. 2. Hemmung der Hefegärung durch Jodessigsäureäthylester in verschiedenen Konzentrationen.

In der höheren Konzentration von 1:100000 erniedrigte der Zusatz des Esters die Atmung der Hefezellen nach $1^1/_2$ Stunden Einwirkung um 75%, die Gärung um 83%. Die Vergiftungskurven zeigen dann im Laufe von Stunden noch einen weiteren Anstieg. Während jedoch die

anaerobe Gärung nach 22 Stunden mit 98% Hemmung praktisch erloschen war, erholte sich die Atmung nach einer vorübergehenden Hemmung von 97% nach 22 Stunden wieder langsam: die Reduktion des Sauerstoffverbrauchs betrug nach 72 Stunden nur noch 89%.

Der spezielle zeitliche Verlauf der eingetretenen Hemmungen ist im einzelnen den Kurvenbildern von Abb. 1 und 2 zu entnehmen.

Die Hemmung von Zellatmung und Glykolyse vollzieht sich nach diesen Untersuchungen, wie es zunächst scheint, ohne Abhängigkeit voneinander nach eigenen Gesetzmäßigkeiten. Am auffallendsten ist die erhebliche Wirkung des Esters auf den Sauerstoffverbrauch in den Verdünnungen 1:1 Million bis 1:2 Millionen, die die Gärungsprozesse nicht mehr zu beeinflussen vermögen. Erst durch stärkere Konzentrationen wird — wie aus den Kurven ersichtlich — auch die Glykolyse mitbetroffen. In hohen Konzentrationen, z. B. 1:100000, ist dagegen die Schädigung der Glykolyse nach $1^1/_2$ Stunden schon intensiver als die der Zellatmung.

Die Abhängigkeit der eintretenden Hemmungen von der Konzentration ist demnach für die Zellatmung wesentlich anders als für die anaerobe Gärung: der Sauerstoffverbrauch der Hefesuspensionen wird schon durch geringe Konzentrationen verhältnismäßig stark eingeschränkt, ohne daß bei weiterer Erhöhung dieser Konzentrationen die Wirkungen entsprechend zunehmen. Dagegen scheint die Schädigung der anaeroben Glykolyse eine *lineare* Abhängigkeit von der Konzentration aufzuweisen: die Wirkungsverstärkung entspricht im allgemeinen jeweils der Konzentrationszunahme. Ebenso verschieden für Zellatmung und Glykolyse ist die Abhängigkeit der eintretenden Hemmungen von der Einwirkungsdauer: Trotz der sehr verschiedenen Konzentrationen (1:2 Millionen bis 1:200000) war das Maximum der jeweiligen Atmungshemmung schon bei der ersten Messung $1^1/_2$ Stunden nach Giftzusatz voll ausgebildet. Anschließend trat eine langsame Wiedererholung des Atmungsvermögens ein. Dagegen schreitet die Hemmung der Glykolyse (besonders deutlich bei Konzentration 1 zu 200000) mit der Zeit noch beträchtlich fort.

b) Äthylester der Monobromessigsäure.

Auch dieser kaum wasserlösliche Stoff ist noch in überraschend hohen Verdünnungen stark toxisch. Ebenso wie beim Äthylester der Monojodessigsäure überwiegt dabei die atmungshemmende Wirkung stark. Nach $1^1/_2$ Stunden war bei Konzentration 1:10 Millionen 35%, bei 1:5 Millionen 42% Atmungseinschränkung festzustellen, ohne daß die Gärung der Hefezellen in den gleichen Ansätzen auch späterhin irgendwie beeinflußt wurde.

Auch Konzentration 1:2 Millionen war für die glykolytischen Stoffwechselprozesse kaum wirksam: Die Einschränkung der anaeroben

CO_2-Produktion betrug nach 91 Stunden nicht mehr als 9%. Dagegen war die Atmungsintensität in den gleichen Hefesuspensionen schon nach $1^1/_2$ Stunden Einwirkung um 56% erniedrigt. Sie erholte sich aber in der Folgezeit wieder.

Auch die Atmungshemmung von 58%, die bei Konzentration 1:1 Million nach $1^1/_2$ Stunden festzustellen war, zeigte bereits in den folgenden Stunden die Tendenz der Erholung. Im Gegensatz dazu wird das Maximum der Gärungseinschränkung regelmäßig viel langsamer erreicht: in den gleichen Ansätzen betrug die Schädigung der anaeroben Glykolyse nach $1^1/_2$ Stunden 5%, nach 50 Stunden 29%, nach 72 Stunden 34%.

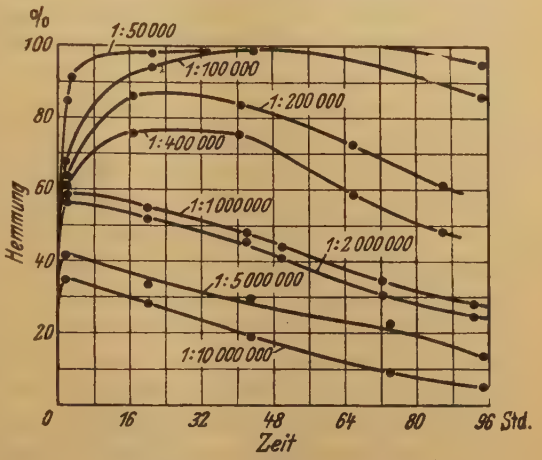


Abb. 3. Hemmung der Hefeatmung durch Bromessigsäureäthylester in verschiedenen Konzentrationen.

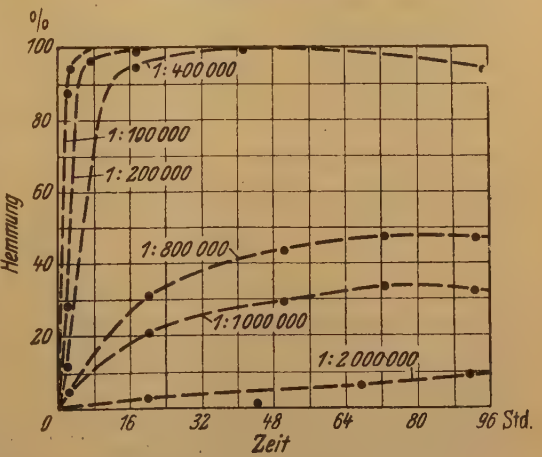


Abb. 4. Hemmung der Hefegärung durch Bromessigsäureäthylester in verschiedenen Konzentrationen.

Bei Konzentration 1 zu 400000 und 1:200000 überwiegt die Atmungshemmung von 61 bzw. 64% nach $1^1/_2$ Stunden ebenfalls deutlich über die zur gleichen Zeit feststellbare Reduktion der Glykolyseintensität (11 bzw. 28%). In den nächsten Stunden entwickelt sich auch hier die Glykolyseschädigung weiter fort: sie betrug bei Konzentration 1:400000 nach 17 Stunden 95%, bei Konzentration 1:200000 schon nach 7 Stunden 96%. Die Atmungshemmung nimmt bei diesen Konzentrationen, wie aus Abb. 3 ersichtlich, zwar ebenfalls nach $1^1/_2$ Stunden noch zu, aber in wesentlich geringerem Maße. Es ist infolge dieser hochgradigen Gärungshemmung aber wahrscheinlich, daß dieses weitere Fortschreiten der Atmungshemmung in erster Linie eine sekundäre Erscheinung ist und auf einer Verarmung an veratembarem

Substrat beruht, das durch die glykolytischen Prozesse bereitgestellt werden muß*.

In der hohen Konzentration 1:100000 war bereits nach $1^1/_2$ Stunden die Gärung um 87% eingeschränkt, während der Sauerstoffverbrauch erst um 67% abgesunken war. Die Vergiftungsläufe im einzelnen s. Abb. 3 und 4.

Der Äthylester der Monobromessigsäure scheint nach diesen Untersuchungen für die Hefesuspension etwas toxischer zu sein als der der Monojodessigsäure, in den speziellen Wirkungen herrscht dagegen eine weitgehende Übereinstimmung:

1. Ebenso wie durch den lipoidlöslichen Ester der Monojodessigsäure werden in millionenfacher Verdünnung die Prozesse der Zellatmung stark geschädigt, ohne daß die Glykolyse merklich betroffen wird.

2. Diese Atmungshemmung erreicht rasch ihr Maximum. Sie ist nach $1^1/_2$ Stunden jeweils voll ausgebildet und zeigt bereits in den nächsten Stunden die Tendenz wieder zurückzugehen.

3. Die Schädigung der Glykolyse ist dagegen über viele Stunden in dauerndem Fortschreiten. Die Geschwindigkeit hängt dabei weitgehend von der Konzentration des Esters ab.

4. Die bereits in höchsten Verdünnungen eintretende Atmungshemmung läßt sich durch Verstärkung der einwirkenden Konzentrationen nicht in entsprechendem Maße steigern. Dagegen führt die gleiche Erhöhung der Konzentration stets zu einer entsprechenden Verstärkung der Glykolyseschädigung. Bei starken Konzentrationen über 1:100000 ist daher die Glykolyse nach $1^1/_2$ Stunden prozentual intensiver als die Atmung betroffen.

c) Äthylester der Monochloressigsäure.

Der Äthylester der Monochloressigsäure ist im Vergleich zu den oben besprochenen Estern der Monojod- und Monobromessigsäure deutlich weniger toxisch; er unterscheidet sich jedoch in der Art der Wirkung nicht wesentlich von diesen.

Nach $1^1/_2$ Stunden war bei Konzentration 1:1 Million eine Atmungshemmung von 18%, bei Konzentration 1:500000 eine Hemmung von 28% festzustellen, ohne gleichzeitige Glykolysebeeinflussung.

---

* Zusatz von Alkohol vermag dieses weitere Fortschreiten der Atmungshemmungen dementsprechend zum großen Teil zu verhindern. Bei Alkoholzusatz (schon über 3% zu den Suspensionen) entwickeln sich aber auch die Atmungshemmungen in den hohen, millionenfachen Verdünnungen der Ester etwas weniger ausgeprägt. Anscheinend wird durch stärkeres Angebot an veratembarem Substrat das Ausmaß der Atmungshemmungen allgemein erniedrigt. — Diese Alkoholwirkung beruht jedenfalls nicht auf einer unspezifischen Verdrängung der Ester durch den oberflächenaktiven Alkohol, da andere Narkotika, z. B. Azeton, in entsprechender Konzentration ohne Einfluß sind.

Auch die Einschränkungen des Sauerstoffverbrauchs bei Konzentration 1:200000 und 1:100000, die nach $1^1/_2$ Stunden Einwirkung 39 bzw. 41% betrugen, waren zu dieser Zeit noch nicht von einer Gärungshemmung begleitet.

Selbst bei Konzentration 1:50000 und 1:25000 (Atmungshemmung 43 bzw. 45%) war nach $1^1/_2$ Stunden die anaerobe CO_2-Produktion nur um 5 bzw. 7% herabgesetzt.

In den folgenden Stunden tritt dann aber, während die Atmungsfunktion der Hefezellen sich bereits wieder zu erholen beginnt, in sämtlichen für die Atmung toxischen Konzentrationen eine mit der Zeit stark fortschreitende Schädigung der Gärung ein. Diese Nachwirkung auf die glykolytischen Prozesse ist stärker als beim Äthylester der Monojod- und Monobromessigsäure und beherrscht nach einigen Stunden das Vergiftungsbild mehr und mehr.

II. Kurzfristige Versuche an Hefe.

Zur weiteren Ergänzung der Ergebnisse wurde auch der Vergiftungsverlauf unmittelbar nach Zusatz der Ester untersucht.

Methode.

Gegenüber den langfristigen Versuchen traten folgende Änderungen ein: Die Atemtröge wurden mit 1,5 ccm der Suspension = 7,5 mg Hefe + 0,2 ccm 8%ige Glukoselösung beschickt. Nach einem Druck- und Temperaturausgleich von 12 Min. wurde dazu 0,5 ccm gifthaltige Phosphatlösung, die aus alkoholischen Lösungen der Ester hergestellt war, aus dem Seitenarm in die Suspension eingekippt. Die dabei mitgegebenen Alkoholmengen betrugen — bezogen auf die Gesamtsuspension — nicht mehr als 1 ‰. In die Kontrollen wurde 0,5 ccm reine Phosphatlösung eingekippt. Die Ablesung der Atmungs- und Gärungswerte erfolgte 10, 20 und 30 Min. nach Zusatz der Ester. Die eingetretenen Hemmungen wurden prozentual für die Spanne zwischen je 2 Ablesungen berechnet. Die angegebenen Werte sind das Mittel aus 4—6 Bestimmungen.

Ergebnis.

Die für den Äthylester der Monobromessigsäure in Tabelle 1 zusammengestellten Werte lassen die zeitliche Entwicklung der Stoffwechseleinschränkungen genügend erkennen. Die Ester der Monochlor- und Monojodessigsäure verhalten sich ganz ähnlich.

Schon unmittelbar nach Zusatz des Esters ist die Reduktion des Sauerstoffverbrauches zu erfassen. Die für die Zeit von 20—30 Min. gemessenen Atmungseinschränkungen stellen dann für die untersuchte Hefe bereits praktisch das Hemmungsmaximum dar, das später nicht mehr überschritten wird.

Als wesentlichste Feststellung kann gelten: Bei Konzentration 1:5 Millionen setzt die Atmungshemmung ebenso wie bei der 50fach stärkeren Konzentration 1:100000 sofort ein. Das Maximum der

Tabelle 1.

Konzentration	Atmungshemmung			Glykolysehemmung		
	0—10 Min. %	10—20 Min. %	20—30 Min. %	0—10 Min.	10—20 Min. %	20—30 Min. %
1:5000000	12	16	29	Keine Hemmung	Keine Hemmung	Keine Hemmung
1:2000000	20	41	47	Keine Hemmung	Keine Hemmung	Keine Hemmung
1:1000000	27	40	51,5	Keine Hemmung	Keine Hemmung	Keine Hemmung
1:400000	36	50	56	Keine Hemmung	Keine Hemmung	10
1:200000	39,5	48	59	Keine Hemmung	14	19
1:100000	42,5	49	65	Keine Hemmung	30	40

Hemmung wird schnell und trotz dieser Konzentrationsunterschiede praktisch zur gleichen Zeit erreicht.

Die Hemmung der Glykolyse tritt dagegen erst nach einer Latenzzeit auf, die bei den untersuchten Konzentrationen mindestens etwa 10 Min. betrug. Über ihr weiteres Fortschreiten geben schon die langfristigen Versuche Aufschluß.

Die entsprechenden Methylester weisen im Wirkungscharakter gegenüber den Äthylestern keine Unterschiede auf. Auch die toxischen Konzentrationen sind ähnlich.

C. Besprechung.

I. Atmungshemmung.

Aus allen unseren Versuchen geht hervor, daß die Äthylester der Monohalogenessigsäuren sich in ihrer Wirkung ganz auffallend von den freien Säuren unterscheiden. Bekanntlich hemmen die freien Säuren gerade in hohen Verdünnungen die glykolytischen Prozesse so bevorzugt, daß nach den Angaben von Lundsgaard[1] an Hefe in bestimmten Konzentrationen der anoxybiontische Zuckerabbau ausgeschaltet werden kann, ohne daß dadurch die Atmung beeinträchtigt wird*. Die Ver-

* Auf die genauere Wiedergabe eigener, vergleichender Versuche mit den freien Monohalogenessigsäuren kann verzichtet werden, da deren bevorzugt glykolysehemmende Wirkung an der verwendeten Bäckerhefe durchaus den Angaben der Literatur entsprach. Bemerkenswert ist immerhin, daß beim Vergleich von äquimolaren Konzentrationen der freien Säuren mit ihren entsprechenden Estern die glykolysehemmende Wirkung der Ester die der freien Säuren sogar etwas übertrifft. Die besondere Toxizität der Ester für die Zellatmung beruht also nicht auf einer verringerten Wirkung gegenüber der Gärung, sondern ausschließlich auf einer ganz wesentlichen Steigerung der Aktivität gegenüber den aeroben Stoffwechselprozessen.

esterung der freien Säuren kehrt dagegen dieses Verhältnis um: Noch erstaunlich geringe Konzentrationen der Ester schränken die Prozesse der Zellatmung stark ein, ohne gleichzeitig die anaerobe Gärung zu treffen.

Als Ursache für diese auffallende Wirkungsänderung kommen offenbar die *anderen physikalisch-chemischen* Eigenschaften in Betracht, welche die freien Säuren durch Veresterung erhalten: Vor allem eine weit stärkere *Lipoidlöslichkeit* sowie *Oberflächenaffinität*. Die chemische Reaktionsfähigkeit des Halogens, an das die Toxizität des Gesamtmoleküls geknüpft ist, scheint dagegen unbeeinflußt zu bleiben.

Ähnlich wie für unspezifische Narkotika (vgl. WINTERSTEIN[6], KOCHMANN[7], HÖBER[8]) liegt die Frage nahe, ob diese erhöhte Toxizität gegenüber der Zellatmung auf der besseren Löslichkeit der Ester in Lipoiden beruht oder auf ihrer stärkeren Adsorbierbarkeit an Oberflächen. Da nach WARBURG[9] die Zellatmung als Prozeß an den Oberflächen der Zellstrukturen aufgefaßt werden muß, könnte die dort zu erwartende adsorptive Anreicherung ein bevorzugtes Reagieren der Ester mit Fermentgruppen der Atmung gut erklären.

Tatsächlich verläuft die Hemmung der Zellatmung durch die besprochenen halogenhaltigen Ester auch im einzelnen nach den *Gesetzen* eines *Adsorptionsvorganges:* Neben der Schnelligkeit eines solchen Prozesses ist die besondere Abhängigkeit der Wirkung von der angewendeten Konzentration für Adsorption charakteristisch. Bekanntlich ist als wesentlichste Eigenart die Adsorption in *kleinen* Konzentrationen relativ viel *stärker* als bei *großen* Konzentrationen, eine Beziehung, die durch die FREUNDLICHsche bzw. LANGMUIRsche Adsorptions-*Isotherme* dargestellt ist (vgl. HÖBER[8]). Sind die beobachteten Hemmungen den adsorbierten Substanzmengen proportional, so müßten kleinere Konzentrationen der halogenhaltigen Ester relativ viel stärkere Hemmungen der Zellatmung hervorrufen als größere, und daher für die Abhängigkeit der Wirkung von der angewendeten Konzentration eine Kurve zu erwarten sein, die dieser Adsorptions-Isotherme ähnelt*. Dies trifft nun tatsächlich zu: die schon in höchsten Verdünnungen eintretenden Atmungshemmungen ließen sich, wie bereits betont, in keinem Fall durch Verstärkung der einwirkenden Konzentration in entsprechendem Maße steigern. Trägt man die Hemmungen des Sauerstoffverbrauchs in Prozenten auf der Ordinate und die Konzentrationen der halogenhaltigen Ester auf der Abszisse auf, so ergeben sich für die Konzentrationsabhängigkeit der eintretenden Atmungshemmungen Kurven, die — für biologische Verhältnisse recht befriedigend — dem Verlauf einer solchen Adsorptionsisotherme entsprechen.

* Vgl. WARBURG: Biochem. Z. **103**, 197 (1920).

Beispiele: Abb. 5 zeigt Wirkungs-Konzentrationskurven vom Äthylester der Monobromessigsäure.

Kurve 1. Schon die von 0—10 Min. nach Esterzusatz eingetretenen Atmungshemmungen (Werte aus Tabelle 1) ergeben bei graphischer Darstellung in Abhängigkeit von der Konzentration eine FREUNDLICHsche Adsorptionsisotherme. Dies ist noch näher zu beweisen: Trägt man die Logarithmen der Giftkonzentration auf der Abszisse, die Logarithmen der Hemmungen auf der Ordinate auf, so erhält man ungefähr eine Gerade (s. Abb. 6), so wie es für Adsorptionen charakteristisch ist.

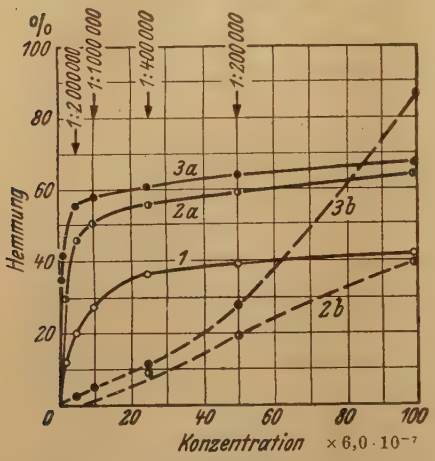


Abb. 5. Wirkungs-Konzentrationskurven vom Äthylester der Monobromessigsäure.

Sind die ermittelten Hemmungen Werte einer Adsorptionskurve,

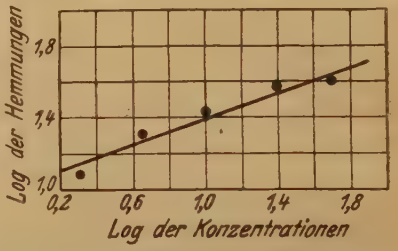


Abb. 6. Logarithmische Darstellung der Atmungshemmungen und der einwirkenden Konzentrationen 0—10 Min. nach Zusatz des Esters.

Kurve 1: Konzentrationsabhängigkeit der Atmungshemmungen 0—10 Min. nach Zusatz des Esters. *Kurve 2a:* Konzentrationsabhängigkeit der Atmungshemmungen 20—30 Min. nach Zusatz des Esters. *Kurve 2b:* Konzentrationsabhängigkeit der Glykolysehemmungen 20—30 Min. nach Zusatz des Esters. *Kurve 3a:* Konzentrationsabhängigkeit der Atmungshemmungen $1^1/_2$ Stunden nach Zusatz des Esters. *Kurve 3b:* Konzentrationsabhängigkeit der Glykolysehemmungen $1^1/_2$ Stunden nach Zusatz des Esters.

so müssen sie nach der LANGMUIRschen Adsorptionsisotherme für die betreffenden Konzentrationen folgendermaßen auch zu berechnen sein:

$$\text{Hemmung} = \frac{a \cdot c_{\text{Lösung}}}{1 + b \cdot c_{\text{Lösung}}}$$

a und b läßt sich für den Grenzfall sehr kleiner und sehr großer Konzentrationen bestimmen. Setzt man für den Fall von Kurve 1 die Werte $a = 7{,}5$, $b = 0{,}175$, so bestätigen tatsächlich die daraus berechneten Hemmungen beim Vergleich mit den gemessenen Hemmungen die

Konzentration ($c_{\text{Lösung}}$)	2 × 6,0 · 10⁻⁷	5 × 6,0 · 10⁻⁷	10 × 6,0 · 10⁻⁷	25 × 6,0 · 10⁻⁷	50 × 6,0 · 10⁻⁷
Hemmung, berechnet % .	11	20	27	35	39,5
Hemmung, gemessen % . .	12	20	27	36	39,5

vermutete Adsorptionskurve ($c_{\text{Lösung}}$ sei dabei gleich der Anfangskonzentration c_0).

Kurve 2a gibt die Atmungshemmung für die Zeitspanne von 20 bis 30 Min. nach Zusatz des Bromessigsäureäthylesters wieder. Sie entspricht der LANGMUIRschen Adsorptionsisotherme mit den Werten $a = 27$, $b = 0{,}435$. Ähnliches gilt für *Kurve 3a* (Werte aus Tabelle 3), die

Tabelle 2. *Äthylester der Monojodessigsäure.*
(Vergiftungsstand nach $1^1/_2$ Stunden Einwirkung.)

Konzentration	Atmungshemmung %	Glykolysehemmung %	Konzentration	Atmungshemmung %	Glykolysehemmung %
1:2000000	40	—	1:200000	60	28
1:1000000	45	7	1:100000	75	83
1:400000	49	14			

Tabelle 3. *Äthylester der Monobromessigsäure.*
(Vergiftungsstand nach $1^1/_2$ Stunden Einwirkung.)

Konzentration	Atmungshemmung %	Glykolysehemmung %	Konzentration	Atmungshemmung %	Glykolysehemmung %
1:20000000	—	—	1:1000000	58	5
1:10000000	35	—	1:400000	61	11
1:5000000	42	—	1:200000	64	28
1:2000000	56	3	1:100000	67	87

Tabelle 4. *Äthylester der Monochloressigsäure.*

Konzentration	Atmungshemmung $1^1/_2$ Std. Einwirkung %	Glykolysehemmung	
		$1^1/_2$ Std. Einwirkung %	4 Std. Einwirkung %
1:2000000	—	—	—
1:1000000	18	—	—
1:500000	28	—	—
1:200000	39	—	2
1:100000	41	2	10
1:50000	43	5	34
1:25000	45	7	80

die Atmungshemmungen nach $1^1/_2$stündiger Einwirkung des Esters in Abhängigkeit von der Konzentration darstellt.

Die gleichen Gesetzmäßigkeiten ergeben sich auch für die Äthylester der Monojod- und Monochloressigsäure. Die Atmungs- und Glykolysehemmungen nach $1^1/_2$stündiger Einwirkung sind in Tabelle 2 und 4 auch für diese beiden Stoffe nochmals aufgeführt.

Besonders auffallend ist der typische Kurvenknick, der zwischen 40 und 60% Atmungshemmung die zunehmende „Absättigung" der

Oberflächen anzeigt. Die Mengen, die zu dieser Sättigung benötigt werden, sind jedoch so gering, daß die Kurven wohl nur die selektive Absättigung bestimmter Reaktionszentren für die Zellatmung auf der Oberfläche wiedergeben und nichts über den Sättigungszustand der Gesamtoberfläche aussagen, die sicher weitaus größere Mengen ohne weiteres adsorbieren kann. Genauere Berechnungen ergeben, daß — selbst für den Fall vollständiger Adsorption — die zur Sättigung führenden Mengen an Bromessigsäureäthylester nur etwa 5% der äußeren Gesamtoberfläche der in der Suspension vorhandenen, kugelig gedachten Hefezellen in monomolekularer Schicht bedecken könnten. Voraussetzung für die Berechnung wäre, daß die Adsorption der Moleküle

Tabelle 5. *Hemmung der Hefeatmung durch halogenhaltige Ester.*

Stoffe	40—50 % Atmungshemmung bei Konzentration (g. Mol/Liter)	Dichte der Zellsuspension
Jodessigsäureäthylester	$2{,}34 \times 10^{-6}$	$^1/_2$ g Hefe/100 ccm
Bromessigsäureäthylester.	$1{,}2 \times 10^{-6}$	$^1/_2$ g Hefe/100 ccm
Chloressigsäureäthylester.	$4{,}1 \times 10^{-5}$	$^1/_2$ g Hefe/100 ccm
Bromessigsäuremethylester	$3{,}27 \times 10^{-6}$	$^1/_2$ g Hefe/100 ccm
Natriumzyanid	$1{,}02 \times 10^{-4}$	$^1/_2$ g Hefe/100 ccm

senkrecht zur Oberfläche erfolgt. Die Möglichkeit, daß auch die inneren Oberflächen der Zelle sich an der Adsorption beteiligen, ist bei der Berechnung noch gar nicht berücksichtigt!

Die halogenhaltigen Atmungsgifte treffen offenbar ähnlich wie Blausäure und Schwefelwasserstoff nur einen Teil der Oxydationen spezifisch und lassen anscheinend einen bedeutenden Atmungsrest unbeeinflußt. Diese Restatmung wird erst bei Einwirkung solcher Konzentrationen stärker eingeschränkt, die auch die Glykolyse hochgradig hemmen. Für das Absinken dieser Restatmung scheint dabei vor allem die Verarmung an veratembarem Substrat entscheidend zu sein. Alkoholzusatz wirkt dementsprechend wieder atmungssteigernd.

Die Mengen toxischer Substanz, die zu einer Oxydationseinschränkung von etwa 50% führen, sind in Tabelle 5 aufgeführt und mit dem bisher am besten bekannten Atmungsgift, der Blausäure in ihrer Wirksamkeit verglichen. Es wird dabei deutlich, daß die Ester der Monohalogenessigsäuren weit stärkere Gifte für die Hefeatmung sind als Natriumzyanid.

Auch der Angriffspunkt scheint verschieden zu sein: Während Blausäure, Schwefelwasserstoff, Kohlenoxyd die eisenkatalytischen Prozesse der Zellatmung blockieren, sind als Angriffspunkt der halogenhaltigen Stoffe wahrscheinlich Fermentgruppen an den Zelloberflächen in Betracht zu ziehen, die der Wasserstoffaktivierung dienen bzw.

Zwischenkatalysatoren, die den Wasserstoff an das eisenhaltige Atmungssystem übertragen. Diese Fragen werden von uns weiterbearbeitet.

II. Glykolysehemmung.

Die Gärungshemmungen, die bei Einwirkung der halogenhaltigen Ester eintreten, entwickeln sich, wie bereits betont, nach ganz anderen kinetischen Gesetzmäßigkeiten als die Einschränkungen des Sauerstoffverbrauchs. So wird die anaerobe Glykolyse nicht entsprechend einer Adsorptionsisotherme sondern stets in linearer Abhängigkeit von den einwirkenden Konzentrationen geschädigt, d. h. die Hemmungen sind in den zur Anwendung kommenden toxischen Substanzmengen im wesentlichen proportional.

Ebenso beachtlich sind die zeitlichen Unterschiede: die Atmungshemmungen treten sofort ein und erreichen im Laufe von Minuten in allen Konzentrationen praktisch gleich rasch und etwa zur selben Zeit ihr Maximum. Die Schädigungen der Glykolyse entwickeln sich dagegen erst nach einer Latenzzeit und schreiten etwa proportional zu den einwirkenden Konzentrationen verschieden schnell über Stunden und Tage fort.

Diese anscheinend recht komplizierten Verhältnisse fänden eine einfache Erklärung, wenn man für die blockierten Reaktionsorte der Zellatmung besonders enge Beziehungen zu den äußeren Oberflächen der Hefezelle annähme, gleichzeitig aber die glykolytischen Funktionen mehr ins Zellinnere verlegen würde. Die eigenartige Wirkung der halogenhaltigen Ester könnte dann auf einem „Sorptionsvorgang" beruhen. Für einen solchen Prozeß ist eine schnelle adsorptive Phase charakteristisch, an die sich die langsamere Diffusion des adsorbierten Stoffes ins Innere des Adsorbens anschließt. Die Atmungshemmung würde nach dieser Vorstellung in Abhängigkeit von der raschen adsorptiven Anreicherung der halogenhaltigen Ester an den äußeren Oberflächen der Hefezelle erfolgen, während die Reaktionsorte der Glykolyse erst anschließend durch Diffusion des toxischen Stoffes ins Innere erreicht werden könnten. Mit dieser Annahme stünde auch im Einklang, daß erhebliche Glykolyseschädigungen bei den untersuchten Estern erst in solchen Konzentrationen eintreten, bei denen die oberflächlichen Reaktionsorte der Zellatmung — erkennbar am Verlauf der Adsorptionsisotherme — bereits eine „Sättigung" zeigen.

Diffusionsprozesse durch Zellmembranen sind in ihrer Kinetik bisher hauptsächlich an Algen unter Verwendung von Farbstoffen und anderen Substanzen studiert worden. Ausgedehnte Untersuchungen liegen besonders über den Eintritt von Kresylblau in die Zentralvakuole der großzelligen Alge Nitella vor (Brooks[10], Irwin[11]). Die Kinetik entspricht dabei dem einfachen Fall einer monomolekularen Reaktion (Osterhout[12]).

Tatsächlich scheint nun die Glykolysehemmung durch den Äthylester der Monobromessigsäure nach derselben Regel zu verlaufen. Unsere Zeitwirkungsdiagramme für die Glykolysehemmung ähneln jedenfalls in auffälliger Weise dem Reaktionsverlauf für den Eintritt von Kresylblau in die Alge Nitella, wie bereits der Vergleich von Abb. 7 mit dem entsprechenden Kurvenbild für Kresylblau nach Irwin (vgl. Clark[13]) ergibt. Auf Einzelheiten soll erst zu einem späteren Zeitpunkt eingegangen werden.

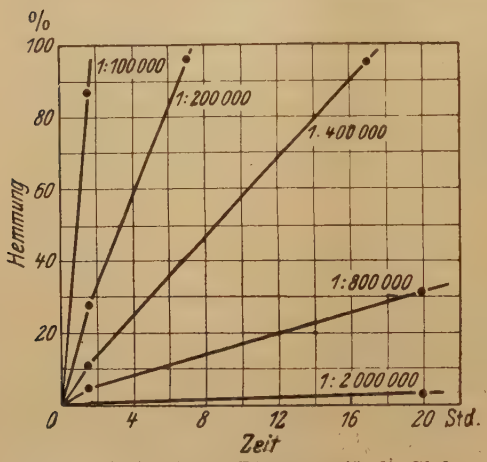


Abb. 7. Zeitwirkungs-Diagramm für die Glykolysehemmung durch verschiedene Konzentrationen von Bromessigsäureäthylester.

Es wäre jedoch auch denkbar, daß die von den Hefezellen im Überschuß gebundenen Ester eine Verseifung erleiden. Die langsam eintretende und über viele Stunden fortschreitende Hemmung der Glykolyse könnte nach dieser Annahme durch die Bildung freier Monohalogenessigsäuren in der Zelle verursacht sein. Wieweit diese zweite Erklärungsmöglichkeit auch noch zu berücksichtigen ist, kann zur Zeit noch nicht sicher entschieden werden.

III. Zur chemischen Natur der betroffenen Fermentgruppen.

Die Toxizität der untersuchten Ester dürfte auf der chemischen Reaktionsfähigkeit des Halogens im Molekül beruhen, das sich ebenso wie die freien Monohalogenessigsäuren mit aktiven Fermentgruppen umsetzt.

Die Frage nach der speziellen chemischen Reaktion, die der atmungs- und gärungshemmenden Wirkung zugrunde liegt, wurde aber bisher auch für den Fall der freien Säuren noch nicht befriedigend geklärt.

a) Umsetzungen mit SH-Gruppen.

Unter den in Betracht zu ziehenden Möglichkeiten hat vor allem die Blockierung der SH-Gruppen von Cystein und Glutathion Beachtung gefunden, Substanzen, denen nach Hopkins[14] eine wichtige Rolle im Atmungs- und Gärungsstoffwechsel zukommen sollte. Diese Reaktion mit SH-Gruppen dürfte für den Fall der Monojodessigsäure wie folgt verlaufen:

$$R — SH + JCH_2COOH = R — SCH_2COOH + HJ.$$

Von Dickens[15], sowie von Michaelis und Schubert[16] sind für die Monojodessigsäure die entsprechenden Reaktionsprodukte mit einer Reihe von Sulfhydrylverbindungen in vitro erhalten worden. Bemerkenswert ist, daß diese Umsetzung tatsächlich in physiologischen p_H- und Temperaturbereichen rasch eintritt. Cystein und Glutathion gehören dabei zu den schnellstreagierenden Thiolen. Daneben können sich aber auch Aminogruppen bei leicht alkalischem, noch physiologischem p_H und einer Temperatur von 37° mit Monojodessigsäure umsetzen (Michaelis und Schubert[16]). Auf die zahlreichen weiteren Untersuchungen zu dieser Frage kann hier nicht eingegangen werden.

Es darf jedenfalls heute als gesichert gelten, daß Monojodessigsäure mit Thiolen zu reagieren vermag und daß dies unter physiologischen Bedingungen rascher eintritt als mit Aminogruppen. Ob diese Reaktion allerdings eine hinreichende Erklärung für die bekannten Wirkungen der Monojodessigsäure darstellt, hängt ganz davon ab, welche Bedeutung im intermediären Stoffwechsel den SH-Gruppen eingeräumt werden kann. Die Rolle der Thiole als Oxydationskatalysatoren im Hauptweg des Kohlehydratabbaus ist aber noch umstritten (s. Franke[17]).

b) Umsetzungen mit Dehydrasen oder Mutasen.

Es ergibt sich daher die Frage, ob nicht außer den Thiolen noch andere physiologisch wichtige Systeme in ähnlicher Weise mit den Monohalogenessigsäuren zu reagieren vermögen. Es soll in diesem Zusammenhang kurz auf die Möglichkeit hingewiesen werden, daß die Monohalogenessigsäuren unter Umständen an bestimmten Stellen im intermediären Stoffwechsel sich mit den hydrierten Stufen wasserstoffaktivierender Fermente (Dihydro-Cozymase, Dihydroflavingruppe des gelben Ferments) umsetzen und durch Blockierung dieser Wirkgruppen die geordneten Wasserstoffübertragungen stören könnten. Diese Reaktion wäre für die Monojodessigsäure vielleicht wie folgt zu formulieren:

$$\text{Ferment} - \text{H} + \text{JCH}_2 - \text{COOH} = \text{Ferment} - \text{CH}_2\text{COOH} + \text{HJ}.$$

Bekanntlich geben die genannten hydrierten Stufen leicht ihren Wasserstoff weiter. Die Dihydrostufe der Cozymase reduziert z. B. in der Kälte Silbernitrat, wenn auch langsam. Die Monohydroverbindung, die „gelbe Stufe" (Karrer, Schwarzenbach, Benz und Solmssen[18], Karrer und Benz[19]) reduziert dagegen Silbernitrat in der Kälte augenblicklich und muß als außerordentlich starkes Reduktionsmittel aufgefaßt werden (Adler, Hellström, v. Euler[20].) Gerade diese gelbe Stufe dürfte aber eine sehr große physiologische Bedeutung haben (Theorell[21]).

Mit unserer Vermutung steht in Einklang, daß Monojodessigsäure gerade diejenigen Reaktionen bei der fermentativen Zuckerspaltung aufhebt, bei denen Cozymase als Wasserstoffüberträger benötigt wird (Parnas[22]). Dies gilt besonders für die Aldehydmutase, die Alkohol- und Triosephosphatdehydrase.

Im Gegensatz zu der fraglichen Bedeutung der Thiole steht fest, daß die Wasserstoffaktivierung durch die genannten Wirkgruppen einen integrierenden Bestandteil sowohl der geordneten aeroben (Wieland[23]) wie anaeroben Stoffumsetzungen darstellt. Daß die wasserlöslichen Monohalogenessigsäuren in erster Linie die Glykolyse, die lipoidlöslichen besser adsorbierbaren Ester dagegen mehr die Atmungsprozesse schädigen, ist, wie oben besprochen, anscheinend nicht durch Unterschiede in der chemischen Reaktionsfähigkeit zu erklären, sondern in einer anderen örtlichen Verteilung dieser Stoffe auf die Zelle begründet.

Sind unsere Vorstellungen richtig, so werden in beiden Fällen wasserstoffaktivierende Wirkgruppen *gleicher* oder *ähnlicher* Art betroffen, die an den Zelloberflächen der Atmung, dagegen in oberflächenferneren Zellbezirken der Glykolyse dienen und in Abhängigkeit von der typischen Verteilung der halogenhaltigen toxischen Stoffe jeweils mehr oder weniger geschädigt werden.

Zusammenfassung.

1. In ihrer Wirkung auf den Hefestoffwechsel unterscheiden sich die Ester der Monohalogenessigsäuren sehr auffällig von den freien Säuren: Die Monohalogenessigsäuren hemmen bekanntlich spezifisch die glykolytischen Umsetzungen, dagegen sind ihre Methyl- und Äthylester in erster Linie hochwirksame Gifte für die Hefeatmung, selbst noch in millionenfacher Verdünnung. Sie übertreffen damit die Blausäure bei weitem.

2. Diese überwiegende Schädigung der Atmungsprozesse wird mit hoher Wahrscheinlichkeit allein durch die andere Verteilung der stark oberflächenaktiven, wenig wasserlöslichen Ester auf die Zelle verursacht, wobei eine besondere Anreicherung an den oxydationskatalytisch wirksamen Strukturoberflächen erwartet werden kann.

3. Die Hemmung der Hefeatmung vollzieht sich auch im einzelnen nach den Gesetzen eines Adsorptionsvorganges: Ihre Konzentrationsabhängigkeit entspricht der Freundlichschen bzw. Langmuirschen Adsorptionsisotherme. Die Oxydationshemmungen treten ohne Latenzzeit ein und erreichen rasch und bei allen Konzentrationen praktisch gleichzeitig ihr Maximum.

4. Stärkere Konzentrationen der Ester hemmen auch die anaerobe Glykolyse. Die Schädigung dieser Stoffwechselfunktion vollzieht sich jedoch völlig unabhängig von den Atmungshemmungen und nach ganz anderen Gesetzmäßigkeiten: im einzelnen sind die Glykolysehemmungen bis zum völligen Erlöschen des Gärvermögens den einwirkenden Konzentrationen stets etwa proportional. Sie setzen erst nach einer gewissen Latenzzeit ein und nehmen dann zum Teil noch über Stunden und Tage weiter zu.

5. Als Ursache der Atmungs- und Glykolysehemmungen wird auf die Möglichkeit einer Blockierung wasserstoffaktivierender Wirkgruppen durch die halogenhaltigen Ester und generell durch halogenhaltige Stoffwechselgifte aufmerksam gemacht.

6. Aus der völlig verschiedenen Kinetik, nach der sich die Hemmung der Atmung und Gärung vollzieht, ergeben sich Hinweise auf eine verschiedene Lokalisation dieser beiden Stoffwechselphasen in der Hefezelle.

Literatur.

[1] Lundsgaard, E.: Biochem. Z. **217**, 162 (1930); **220**, 1, 8 (1930); **250**, 61 (1932). — [2] Nilsson, R., K. Zeile u. H. v. Euler: Z. physiol. Chem. **194**, 53 (1931). — [3] Kluyver, A. J. u. J. C. Hoogerheide: Proc. roy. Akad. Amsterdam **36**, 596 (1933). — [4] Ehrenfest, E.: J. biol. Chem. (Am.) **97**, 76 (1932). — [5] Boysen-Jensen, R.: Biochem. Z. **236**, 211 (1931). — [6] Winterstein: Die Narkose. Berlin 1926. — [7] Kochmann, M.: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, 2. Erg.-Bd., S. 248. 1936. — [8] Höber, R.: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1926. — [9] Warburg, O.: Biochem. Z. **119**, 134 (1921); **136**, 266 (1923). — Pflügers Arch. **155**, 547 (1914). — Erg. Physiol. **14**, 253 (1914). Warburg u. Negelein: Biochem. Z. **113**, 257 (1921). — Warburg u. Brefeld: Biochem. Z. **145**, 461 (1924). — [10] Brooks M. M.: Protoplasma **1**, 305 (1926). — [11] Irwin, M.: J. gen. Physiol. **8**, 147 (1925/26). — [12] Osterhout, W. J.: Erg. Physiol. **35**, 967 (1933). — [13] Clark, A. J.: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, 4. Erg.-Bd.: General Pharmacology, S. 101. 1937. — [14] Hopkins, F. G.: Biochem. J. (Brit.) **15**, 286 (1921); **32**, 611, 1829 (1938). — [15] Dickens, F.: Biochem. J. (Brit.) **27**, 1141 (1933). — [16] Michaelis u. Schubert: J. biol. Chem. (Am.) **106**, 331 (1934). — [17] Franke, W.: In Nord-Weidenhagens Handbuch der Enzymologie, S. 821. 1940. — [18] Karrer, Schwarzenbach, Benz u. Solmssen: Helvet. chim. Acta **19**, 811 (1936). — [19] Karrer u. Benz: Helvet. chim. Acta **19**, 1028 (1936). — [20] Adler, Hellström u. v. Euler: Z. physiol. Chem. **242**, 225 (1936). — [21] Theorell, H.: In Nord-Weidenhagens Handbuch der Enzymologie, Bd. II, S. 846. 1940. — [22] Parnas, J. K.: In Nord-Weidenhagens Handbuch der Enzymologie, Bd. II, S. 933. 1940. — [23] Wieland, H.: Über den Verlauf der Oxydationsvorgänge. Stuttgart 1933.

Über die Harnbildung der Schildkrötenniere*.

Von

R. Hotovy.

(Eingegangen am 25. September 1944.)

Durch die Arbeiten von Kuschinsky und Langecker[1] wurde erneut die Frage aufgeworfen, ob die Sekretion durch die Nierentubuli bei der Harnbildung eine maßgebende Rolle spiele. Als Kriterium für die Sekretion wurde dabei einerseits die erhöhte Wasserausscheidung nach Phenolrot, andererseits die Hemmung derselben und die der Phenolrotsekretion durch Atropin gewählt. Diese Versuche wurden an Hunden und Ratten ausgeführt und es lag daher nahe diese mit modernen Methoden gewonnenen Erkenntnisse über die Nierensekretion auch an Kaltblütern, deren Nieren eine getrennte Gefäßversorgung für die Glomeruli und Tubuli aufweisen, zu überprüfen. Als geeignetes Präparat, das einen ähnlichen Aufbau aufweist wie die Froschniere und dabei eine entsprechend große Harnmenge produzieren kann, wurde die Schildkrötenniere für diesen Zweck herangezogen. Sie mußte für die Untersuchungen der Nierenfunktion ähnliche Bedingungen wie das Froschnierenpräparat erfüllen, also die Möglichkeit das Organ lange und leicht am Leben zu erhalten, sowie eine doppelte Gefäßversorgung, den sog. Nierenpfortaderkreislauf mit der gesonderten Gefäßversorgung für Glomeruli und Tubuli besitzen.

Die überlebende Reptilienniere wurde als Versuchspräparat, soweit die Literatur zu übersehen war, nur von Anselmino[2] gebraucht. Dieser verwendete die isolierte Ringelnatterniere als Objekt für seine Versuche, dabei lieferte diese außerordentlich wenig Harn. Dies erschwerte sehr das Arbeiten mit der Niere, um mehrere Harnproben zu erzielen.

Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit soll die Herstellung einer isolierten Schildkrötenniere sein, sowie die Prüfung der Brauchbarkeit dieses Präparates durch eine Analyse der Tätigkeit (Inulin- und Phenolrot-Clearance, Natrium- und Chlorausscheidung), insbesondere der Sekretion.

* Die Arbeit wurde in dem Pharmakologisch-Pharmakognostischen Institut de ehemaligen Deutschen Karls-Universität in Prag, Direktor Prof. Dr. G. Kuschinsky, ausgeführt.

[1] Kuschinsky, G. u. H. Langecker: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 699 (1947). — Langecker, H. u. G. Kuschinsky: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 738 (1947). —

[2] Anselmino, K. J.: Pflügers Arch. **217**, 343 (1927).

Die Nieren haben bei Testudo graeca eine kurze gedrungene Gestalt von 5—6 cm Länge und 3—4 cm Breite. Sie liegen der hinteren Bauchwand bzw. Beckenwand unmittelbar an. Die Sammelkanälchen verlaufen radiär und dabei vereinigen sich die größeren Sammelgänge zum Ureter. Der Ureter selbst ist ziemlich dickwandig und hat einen Durchmesser von 3—5 mm. Er mündet beim Weibchen neben der Ausmündungsstelle des Oviduct in die Kloake. Durch die paarige Art. renalis werden die Nieren mit arteriellem Blut versorgt. Die Pfortader, Vena renalis afferens, wird aus vier Venen gebildet, nämlich von der Vena renalis advehens externa et interna, Vena renalis advehens posterior und Vena renalis anterior, die sich knapp vor dem Nierentubus vereinigen. Die Vena renalis revehens oder efferens wird an der unteren Fläche einer jeden Niere aus mehreren Zweigen zusammengesetzt[3]. Die Glomeruli der Schildkröte haben eine Größe von $216 \times 140\,\mu$ und sind am Präparat gut zu sehen. Die IV. Abschnitte des Nephrons (Schaltstücke und Teile der Schleifen) sind auf beiden Seiten des Sammelrohrs gelagert (Zarnik[4], v. Moellendorff[5], van den Broek u. Mitarbeiter[6]).

Methodik.

Für die Versuche wurden ausschließlich weibliche Tiere von Testudo graeca (20—25 cm Schildlänge) verwendet. Diese sind bedeutend größer als die Männchen und durch den in der Regel längeren und an der Basis meist verdickten Schwanz unterschieden. Auch ist die Brustschale beim Männchen längs der Mitte schwach eingedrückt, vertieft flach (Schreiber[7]). Die Männchen sind wegen des anatomischen Baues von Niere und Hoden für die Durchströmung nicht geeignet. Vor Beginn der Präparation wurde den Tieren 0,25—0,5 ccm Heparin (Liquemin Roche) in eine Fußvene injiziert. Diese Gabe ist für die Durchströmung entscheidend, da das Blut in den Glomeruli sonst gerinnt und dadurch jede Harnbildung aufhört. Novirudin, Liquoid erwiesen sich als nicht brauchbar, Neodymazetat (Parathrodym) rief sternförmige Blutaustritte in der Umgebung der Glomeruli hervor, die mit bloßem Auge sichtbar sind. Den Tieren wird mittels einer Säge seitlich der Panzer angesägt, aber dabei nicht die Lungengefäße und die großen Venen beschädigt, da sofort eine Gasembolie auftritt, die wieder die Glomeruli verstopft und die Durchströmung mit Ringer verhindert. Der angesägte Bauchpanzer wird mit Hilfe eines Meißels und Skalpells vom Rückenpanzer gelockert. Mit dem Skalpell wird die Haut nach vorheriger Dekapitation des Tieres entlang der Verwachsungsstelle mit dem Brustpanzer einschließlich Brustmuskulatur durchtrennt. Hierauf wird durch Auseinanderspreizen des Brust- und Rückenpanzers der Brustpanzer mittels des Skalpells ausgelöst. Die Ovarien mit eventuell vorhandenen Eiern werden entfernt. Dann werden die hinteren Extremitäten mit dem gesamten Becken und Eingeweiden durch Durchschneiden der Haut entlang des Rückenpanzers, durch Dekapsulation des Hüftgelenkes und Durchtrennung der Schwanzwirbelsäule in Rückenpanzerhöhe, aus der Schale herausgelöst. Die Aorta descendens wird frei präpariert, die Art. renalis aufgesucht und sofort die Durchströmungskanüle eingebunden. Für das isolierte Nierenpräparat wurde jede Niere einzeln verwendet, da die Präparation der Vena renalis afferens Schwierigkeiten macht. Für die weitere Präparation wurde die Vena renalis afferens

[3] Bronns Klassen und Ordnungen im Tierreich **6 II**, A. — [4] Zarnik, B. J.: Jena. Z. Naturw. **46**, 113 (1910). — [5] Moellendorff, W. v.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VII/1. 1930. — [6] Broek, A. J. P. van den, G. J. van Oordt u. G. C. Hirsch: Harnorgane. Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere, Bd. 5. Berlin 1938. — Broek, A. J. P. van den: Urogenitalsystem. Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere, Bd. 6. 1933. — [7] Schreiber, E.: Herpetologica europea. 1912.

aufgesucht, eventuell tief einmündende Nebenvenen der Vena renalis afferens müssen abgebunden werden, da das Präparat sonst nicht dicht ist. Der Ureter liegt neben der Nierenpfortader und kann durch Präparation entlang derselben bis zum Oviduct freigelegt werden. Die Umgebung des Ureters ist in der Regel schwärzlich pigmentiert und diese Verfärbung dient als Leitstelle zum Finden des Ureters. In den Ureter wird die Ureterkanüle eingebunden. Das Präparat liegt während der Durchströmung auf einer Korkplatte und wird mit eigenem Gewebe vor Vertrocknen geschützt. Als Durchströmungsflüssigkeit habe ich Froschringer nach Barkan, Broemser und Hahn[8] mit Glykokollzusatz und den entsprechend modifizierten Säugetierringer (0,9%iges NaCl) mit konstantem p_H 7.4 verwendet, da die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes größer als beim Froschblut ist. Der Druck, mit dem die Aorta durchströmt wurde, betrug 14—17 cm, bei der Vene 7—9 cm. Die Harne wurden immer auf ihren Glukosegehalt geprüft. Als Clearancetest für die Filtration wurde Inulin und als Sekretionstest Phenolrot verwendet. Das Inulin wurde kolorimetrisch mit Hilfe des Havemann-Kolorimeters[9] nach Steinitz[10], das Phenolrot nach Corcoran und Page[11], Chlorid nach Haslewood und King[12] und Natrium nach Dreguss[13] bestimmt. (Die entsprechenden Modifikationen siehe unter Kuschinsky und Langecker[1].

Ende August 1943 trat plötzlich ein Massensterben der Schildkröten auf (Diarrhöen) und so konnten viele Versuche nicht mehr ausgeführt werden. Im Jahre 1944 wurden in Prag bedauerlicherweise keine Schildkröten auf den Markt gebracht, daher konnten noch ausstehende Versuche nicht beendet werden.

Berechnet wurde die Minuten-Harnausscheidung, das Verhältnis U/P mg-% für Inulin, Phenolrot, Chlor und Natrium, außerdem die filtrierte Wassermenge je Minute nach Rehberg, ferner Clearance von Phenolrot, Chlorid und Natrium je Minute = (filtrierte Wassermenge × mg-% Plasma) :100. Die Rückresorption je Minute ist dabei filtrierte weniger ausgeschiedene Menge, Phenolrotsekretion = ausgeschiedene weniger filtrierte Menge. Die Temperatur, bei der die Versuche ausgeführt wurden, betrug 20—26° C.

Versuche an der isolierten Niere.

Der bei der Durchströmung zuerst auftretende Harn war noch durch Beimengungen wie Schleim, Schleimzellen und feinen Harnröhrenkonkrementen trüb. Aber nach kurzer Zeit wurde ein klarer Harn gewonnen. Die Durchströmungsgröße von seiten der Art. renalis betrug 4—8 ccm Ringer in der Minute, von seiten der Vene 6—14 ccm Ringer in der Minute.

1. Das Verhalten des Inulins.

Das Inulin wurde in allen Versuchen als eine 50 mg-%Lösung von Inulin (Inulin puriss. Kahlbaum) in Ringer angeboten. Die Durchströmung mit dieser Lösung erfolgte von der Art. renalis aus. Das Verhältnis der Harnkonzentration zur Plasmakonzentration betrug bei den Versuchen mit der 0,65%igen NaCl-Ringer-Lösung: 1,358, 1,291, 1,016, 1,274, 1,22 und 1,27, 1,44, 1,68 mit der 0,9%igen NaCl-Ringer-Lösung.

[8] Barkan, G., Ph. Broemser u. A. Hahn: Z. Biol. **74**, 1 (1922). — [9] Havemann, R.: Biochem. Z. **301**, 105 (1939). — [10] Steinitz, K.: J. biol. Chem. (Am.) **126**, 589 (1938). — [11] Corcoran, A. C. and J. H. Page: Amer. J. Physiol. **126**, 354 (1939). — [12] Haslewood, G. D. A. and E. J. King: Biochem. J. (Brit.) **30**, 902 (1936). — [13] Dreguss, M.: Biochem. Z. **303**, 69 (1939).

2. Das Verhalten des Chlors und Natriums.

Bei der Durchströmung mit 0,65%-iger NaCl-Ringer-Lösung betrug das Verhältnis U/P mg-% des Chlors in den einzelnen Versuchen: 0,17, 0,19, 0,218, 0,635, 0,536 und für das Natrium: 0,2035, 0,232, 0,247, 0,478 und bei 0,9%iger NaCl-Ringer-Lösung für das Chlor: 0,608, 0,612, 0,408, 0,560, für das Natrium: 0,574, 0,443, 0,377, 0,53. In allen Fällen war der Harn hypotonisch und schwach sauer.

3. Das Verhalten des Phenolrot.

Die Phenolrotkonzentration in der Ringer-Lösung betrug 0,5 mg-%. Diese Lösung wurde der Niere über den Pfortaderkreislauf angeboten. Das Verhältnis U/P mg-% betrug bei den mit 0,65%iger NaCl-Ringer durchströmten Nieren: 14,72, 17,84, 33,8, 40,0, 28,0, 31,0, 33,0, 48,6, 72,0, 39,0 und bei 0,9%iger NaCl-Ringer-Lösung: 14,5, 11,16, 26,7. Die Phenolrotsekretion tritt gewöhnlich in der 4.—5. Min. nach Beginn der Phenolrotzufuhr auf.

4. Die Wirkung von Atropin auf die Harnbildung.

Nach 2 mg Atropinum sulfuricum, in den Zuführungsschlauch der Vena portae injiziert, nahm in einem Versuche die Minuten-Harnmenge im Laufe von 40 Min. von 0,05 auf 0,041 ccm ab. Die Phenolrotausscheidung nimmt von 0,005 mg/Min. auf 0,003 mg/Min. ab. Durch Harnstoff ($1^0/_{00}$ in Ringer-Lösung) konnte die Diuresehemmung durchbrochen werden und die Minuten-Harnausscheidung stieg von 0,041 auf 0,052 ccm/Min., während die Phenolrotausscheidung abnahm (0,002 mg/Min.). Nach der Harnstoffgabe wurde im Harn mehr Chlor und Natrium ausgeschieden. Die Chlorausscheidung stieg von 0,062 auf 0,11 mg/Min. und die Natriumausscheidung von 0,0458 auf 0,0914 mg/Min.

Die arterielle Durchströmungsflüssigkeit sank nach Atropingabe von 6 ccm Ringer-Lösung auf 4 ccm in der Minute. Die venöse Durchströmung wurde zuerst besser und nahm nach 15 Min. von 10 auf 7 ccm Ringer-Lösung ab.

In einem zweiten Versuche trat nach der Atropingabe eine Durchströmungsverminderung des arteriellen Kreislaufes von 4,28 auf 3,52 ccm je Minute ein. Im portalen Kreislauf war die Verminderung noch eindeutiger: von 10 auf 3,94 ccm/Min. Die Minutenausscheidung des Harns nahm von 0,06 nach Atropin auf 0,056 ccm/Min. ab. Eine Stunde nach der Atropingabe war die produzierte Harnmenge größer: 0,066 ccm/Min. Die Phenolrotausscheidung sank von 0,0058 auf 0,0043 mg/Min. Die Chlorausscheidung erhöhte sich von 0,11 auf 0,13 mg/Min., gleichsinnig stieg auch die Natriumausscheidung von 0,063 auf 0,0798 mg/Min.

Tabelle 1. *Die Beeinflussung der Harnbildung an der isolierten mit* Ringer-*Lösung durchströmten Niere von Testudo graeca* ♀ *durch Azetylcholin und Atropin* (1 μ Mol = 1/1000000 Mol).

Dosis	Sammelzeit	Harn			Inulin		Phenolrot		Chlor			
		Ausscheidung	Filtrat	Rückresorption	$\frac{U}{P}$ mg-%	Ausscheidung	$\frac{U}{P}$ mg-%	Sekretion	$\frac{U}{P}$ mg-%	Ausscheidung	Clearance	Rückresorption
		ccm Min.				mg/Min.		mg Min.		mg Min. μ Mol Min.		
	11,49—13,08	0,127	0,161	0,034	1,27	0,081	27,9	0,0035	0,536	0,277	0,658	0,381
										7,82	18,59	10,74
Azetylcholin 0,5mg-%	13,08—15,47	0,102	0,127	0,025	1,22	0,014	27,3	0,0016	0,718	0,065	0,109	0,044
										1,82	3,09	1,27
Atropin 10 mg . .	15,47—16,36	0,120	0,166	0,046	1,38	0,084	23,94	0,0078	0,75	0,369	0,678	0,309
										10,40	19,10	8,70

Aus den Versuchen konnte geschlossen werden, daß das Atropin an der Schildkrötenniere eine gefäßkontrahierende Wirkung besitzt, weiter daß die Phenolrotausscheidung abnimmt und die Rückresorption für Natrium und Chlor verringert ist, daher waren Chlor- und Natriumwerte im Harn erhöht.

5. Die Wirkung von Azetylcholin auf die Harnbildung.

Azetylcholin wurde als eine Azetylcholin-Ringer-Lösung (0,5 mg-% mit 0,65% Kochsalz) durch die Vena renalis afferens zugeführt. In diesem Versuch wurde eine Erhöhung der Harnausscheidung durch Phenolrot von 0,054 auf 0,109 ccm/Min. gefunden. Nach einer weiteren Stunde sank sie auf 0,088 ccm/Min.

Azetylcholingabe verringerte den arteriellen Durchfluß von 6 auf 1 ccm je Min., den venösen von 21,6 auf 4,8 ccm/Min. Gleichzeitig nahm die Harnausscheidung von 0,088 auf 0,06 ccm/Min. ab, dagegen stieg das Verhältnis U/P mg-% des Inulins von 1,016 auf 1,658, die filtrierte Wassermenge von 0,089 auf 0,099. Die Phenolrotsekretion nahm ab (von 0,0042 auf 0,0034 mg/Min.), während das Verhältnis U/P mg-% 17,84 auf 20,93 stieg. Die Konzentration von Chlor stieg von 0,285 auf 0,308 mg-%, von Natrium von 0,194 auf 0,221 mg-%.

Eine Atropingabe normalisierte sofort die ganze Harnproduktion; die arterielle Durchflußmenge nimmt durch die Atropingabe zu, nachdem das Präparat nur mit Ringer-Lösung (ohne Azetylcholin) durchströmt wurde, von 1,5 auf 7,06 ccm/Min. bei

dem arteriellen und von 9,24 auf 20,0 ccm/Min. beim portalen Kreislauf. Die Harnmenge blieb bei diesem Versuch unbeeinflußt, das Filtrat nahm von 0,099 auf 0,064 ccm/Min. ab. Das Phenolrot zeigte eine geringe Beeinflussung (eine Verringerung, die aber bei jedem Präparat mit der Zeit auftritt, denn das Präparat ist ja ein absterbendes Objekt). Die Chlor- und Natriumausscheidung im Harn verdoppelte sich.

Die übrigen 6 Versuche zeigen, daß die Harnmenge nach Atropinisierung des Präparates, das unter der Wirkung des Azetylcholins steht, wieder zum normalen Wert steigt. Das Atropin ruft bei vorheriger Azetylcholingabe keine Diuresehemmung hervor. Auch die anderen Atropinerscheinungen an der Niere wurden vermißt (vgl. Tabelle 1).

Drei Schildkrötennieren, die mit 0,9%iger NaCl-Ringer-Lösung durchströmt wurden, zeigten genau dieselben Ergebnisse wie mit 0,65%iger Ringer, nur daß die Chlor- und Natriumausscheidung größer und die Harnproduktion etwas geringer war.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche, welche an der isolierten und künstlich mit Ringer-Lösung durchströmten Schildkrötenniere ausgeführt wurden, zeigten, daß auch diese Reptilienniere dieselben Eigenschaften hat wie die Ringelnatter und Froschniere. Der Harn, den die isoliert durchströmte Schildkrötenniere produziert, ist sauer und hypotonisch. Die Harnbildung selbst ist, wie bei den Fröschen und Kröten es festgestellt wurde (Tamura, Kenzo und Tsutomu Akutsu[14]), von der Glomeruluszirkulation abhängig. Phenolrot wird durch Sekretion bis 72mal konzentriert. Das Inulin-Harn mg-%/Plasma mg-%-Verhältnis ist von derselben Größenordnung wie das der Ringelnatter (mit Ferrocyannatrium bestimmt) (Anselmino[2]), nur der Clearancewert ist viel größer. Die Schildkrötenniere konnte in den angeführten Versuchen bis 7,6 ccm Harn in der Stunde produzieren, ein Vielfaches der Harnmenge, die man bei der Ringelnatter gewinnen konnte. Atropin in hoher Dosis rief in 6 Versuchen eine Diureseverminderung hervor, die mit einer gleichzeitigen Durchflußverminderung sowohl des arteriellen als auch des portalen Kreislaufes einherging. Leider konnten weitere Versuche mit anderer Dosierung wegen Tiermangels nicht durchgeführt werden. Ob die Gefäßverengerung die Ursache der verminderten Harnproduktion ist, oder ob dies eine spezielle Atropinwirkung sei, ließ sich also nicht entscheiden. Das Atropin wirkt beim Kaninchen (Walti[15]), beim Hund (Thompson[16], Ginsberg[17], Kuschinsky und Langecker[18]), bei der

[14] Tamura, Kenzo u. Tsutomu Akutsu: Proc. imp. Akad. **6**, 379 (1930). — [15] Walti, L.: Arch. exper. Path. (D.) **36**, 411 (1895). — [16] Thompson, W.: Du Bois-Reymonds Arch. **1894**, 117. — [17] Ginsberg, W.: Arch. exper. Path. (D.) **69**, 381 (1912). — [18] Kuschinsky, G. u. H. Langecker: Dtsch. med. Wschr. **1943**, 695.

Kröte (Nagasawa[19]), beim Frosch (Mancini[20], Gottwik[21], Trunk[22]) und beim Menschen (Slobozianu[23], Brogsitter und Dreyfuss[24]) diuresehemmend, wogegen Hartwich[25] keine Wirkung beim Frosch feststellen konnte. Auch die isolierte Froschniere reagiert nach Atropin mit einer Gefäßverengung (Durchflußverminderung) (Mancini[20], Gottwik[21], Trunk[22]). Diese Gefäßwirkung könnte bei der Schildkröte und beim Frosch auf eine Adrenalinwirkung zurückzuführen sein, denn bei beiden Tierspecies ist die Niere innig mit der Nebenniere verbunden. so daß eine Adrenalinwirkung nicht ausgeschlossen ist.

Atropin vermindert auch die Phenolrotsekretion, aber auch die Filtration wird geringer (Gefäßwirkung). Der Chlor- und Natriumgehalt im Harn nimmt zu, wahrscheinlich wegen verminderter Rückresorption.

Das Azetylcholin erzeugt in den angewandten Dosen ebenfalls eine verminderte Diurese und eine Konstriktion der Nierengefäße. Durch das Azetylcholin wird wahrscheinlich die Wasser-, Chlor- und Natriumrückresorption gesteigert, während die Phenolrotsekretion abnimmt. bei vergrößertem Verhältnis von U/P mg-%. Das Inulin- U/P mg-% Verhältnis nimmt unter Azetylcholinwirkung zu, d. h. die Rückresorption von Wasser ist erhöht. Die gefäßverengende Wirkung des Azetylcholin wäre wieder durch eine Reizung der Nebenniere mit einer gleichzeitigen Ausschüttung von Adrenalin zu erklären. Eine Vagusreizung ruft in der Regel eine Vasodilatation der Nierengefäße hervor, während die Vasokonstriktoren der Niere durchwegs sympathischen Ursprungs sind (Schretzenmayr[26]). Doch konnte Hirose[27] durch hohe Azetylcholingaben eine Verengerung der Nierengefäße feststellen. Durch Atropin ließ sich bei Hirose der Azetylcholineffekt vollkommen aufheben, ohne daß dabei das Atropin selbst eine Gefäßwirkung zeigt. Dies wäre ein Hinweis für die Azetylcholinwirkung auf die Nebenniere, da nach der Atropingabe die Adrenalinwirkung nicht mehr zutage tritt.

Alle durch das Azetylcholin hervorgerufenen Effekte an den Nieren werden durch das Atropin aufgehoben. Die Harnwerte entsprechen denjenigen vor der Azetylcholingabe. Atropin wirkt also zwar antagonistisch gegenüber dem Azetylcholin, aber nicht selbst gefäßverengernd.

Die noch offen bleibenden Fragen würden sich nur durch weitere Versuche beantworten lassen, die zur Zeit nicht durchführbar sind. Der Hauptzweck dieser Arbeit ist dadurch erfüllt, daß die Brauchbarkeit des Präparates an Hand einiger Beispiele gezeigt werden konnte.

[19] Nagasawa: Proc. imp. Akad. Tokyo **3**, 381 (1927). — [20] Mancini, M.: Arch. exper. Path. (D.) **114**, 275 (1926). — [21] Gottwik, E.: Diss. Prag 1944. — [22] Trunk, E.: Diss. Prag 1945. — [23] Slbozianu: Jb. Kinderhk. **96**, 176 (1922).. — [24] Brogsitter, A. u. W. Dreyfuss: Arch. exper. Path. (D.) **107**, 349 (1925). — [25] Hartwich, A.: Arch. exper. Path. (D.) **111**, 206 (1926). — [26] Schretzenmayr, A.: Arch. exper. Path. (D.) **159**, 545 (1931). — [27] Hirose, Y.: Arch. exper. Path. (D.) **165**, 401 (1932).

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode zur Herstellung einer isoliert durchströmten Schildkrötenniere (Téstudo graeca) beschrieben.

2. Die isoliert durchströmte Schildkrötenniere bildet einen stark hypotonischen Harn.

3. Die Wasserfiltration wurde mittels Inulin-Clearance bestimmt.

4. Phenolrot wird bis zum 72fachen konzentriert.

5. Atropin ruft eine Vasokonstriktion der Nierengefäße hervor, hemmt die Phenolrotsekretion und die Harnausscheidung.

6. Azetylcholin bewirkt ebenfalls eine durch Atropin aufzuhebende Diuresehemmung und Vasokonstriktion der Nierengefäße.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
(ehem. Vorstand: Prof. Dr. E. Grafe).

Glykogenneubildung an der isolierten durchströmten Leber; zugleich ein Beitrag zur Frage der Wirkung synthetischer Nebennierenrindenpräparate auf den Glykogenansatz.

Von
Prof. Dr. **K. Oberdisse** und Dr. **H. W. Hering.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen im Oktober 1944.)

Da neben der Muskulatur die Leber in erster Linie als Produktionsstätte und Speicherorgan des Glykogens anzusehen ist, wurde der Frage des Glykogenansatzes in der Leber unter den verschiedensten Bedingungen stets lebhaftes Interesse zugewandt. Die Versuche wurden meist am intakten Tier, teils auch an der isolierten Leber, letztere meist mit negativem Erfolg, durchgeführt. Im allgemeinen wird man die Versuche am isolierten Organ als besonders beweiskräftig ansehen müssen, da man hier die Schwankungen des Glykogengehaltes unmittelbar während des Versuches verfolgen kann. Untersuchungen am intakten Tier sagen nur dann etwas aus, wenn sie in sehr großen Serien mit den entsprechenden Kontrollen ausgeführt werden; denn der Glykogengehalt der Leber zeigt bekanntlich ganz erhebliche Schwankungen von Tier zu Tier, auch wenn die Versuchstiere unter gleichen Versuchsbedingungen gehalten werden. Untersuchungen an der isolierten Leber wurden meist am Kaltblüter, und zwar an der Schildkröte, vorgenommen. Da aber dem Kohlehydratstoffwechsel des Säugetiers naturgemäß für die menschliche Physiologie größere Bedeutung zukommt und da es uns gelang, an der durchströmten Hundeleber beträchtliche Glykogenansätze zu erzielen, sei im folgenden kurz über diese Versuche berichtet. Es zeigte sich, daß es bei diesem für viele klinische und physiologische Fragestellungen ausschlaggebenden Problem in erster Linie auf eine geeignete Durchströmungstechnik ankommt.

Methodik.

Wir hatten uns bereits früher mit dem Stoffwechsel der isolierten Hundeleber befaßt (Oberdisse und Eckardt[1]; Oberdisse und Paraskevopoulos[2]). In orientierenden Versuchen stellte sich jedoch heraus, daß die damals angewandte Methodik für unsere jetzige Fragestellung

nicht ausreichte. Wesentlich ist nämlich, daß die Durchblutung zu keinem Zeitpunkt, auch nicht während der Präparation und während des Anschlusses an die Apparatur, unterbrochen wird. Auf diesen Punkt haben Bodo und Marks[3] zuerst hingewiesen. Auf unsere frühere Arbeit[1] sei bezüglich Grenzen und Fehlermöglichkeit bei Anwendung des Präparates hingewiesen.

Die Methodik gestaltet sich im einzelnen folgendermaßen: Man benötigt zu einem Versuch zwei Hunde. Der Blutspender soll möglichst groß sein. Wir verwandten Tiere bis zu 30 kg. Für den zweiten Hund, dem die Leber entnommen wird, ist ein Gewicht von etwa 10 kg besonders günstig. Die Versuche wurden zum Teil mit heparinisiertem Blut vorgenommen. In diesem Fall erfolgte die Blutentnahme kurz vor dem Versuch. Zum Teil verwandten wir aber auch defibriniertes Blut, was sich auch ohne Schwierigkeiten durchführen läßt. Man entnimmt in diesem Falle das Blut zweckmäßigerweise am Abend vorher und bewahrt es nach vorhergehender Arterialisierung über Nacht im Eisschrank auf, um die bei der Defibrinierung entstehenden vasokonstriktorischen Substanzen zu zerstören. Die Narkose erfolgt beim Spender mit Morphin-Äther, beim Leberhund mit Pernokton (0,5 ccm/kg, 10%, intramuskulär).

Da die Präparationstechnik von der früher beschriebenen abweicht, sei sie hier noch einmal in den wesentlichsten Punkten beschrieben: Thorax und Bauchhöhle werden durch einen langen Medianschnitt eröffnet, wobei die Lunge durch eine Palmer-Pumpe beatmet wird. Durchschneidung der Nn. phrenici und des Zwerchfells mit Blutstillung. Lose Ligatur um die Aorta abdominalis oberhalb der Nierenarterie. Doppelte lose Ligatur um die V. cava inf. zwischen V. hepatica und V. renalis, desgleichen um die V. cava inf. oberhalb des Zwerchfells. Mobilisierung der Leber soweit wie möglich mit Blutstillung. Präparation von A. hepatica, V. portae, A. pancreatico-duodenalis und Ductus choledochus mit jeweils zwei losen Ligaturen. Jetzt wird nach dem Vorgang von Bodo und Marks[3] eine Kanüle in die A. pancreatico-duodenalis eingebunden und mit Blut aus der Pumpe kurz rückläufig, d. h. leberwärts, durchströmt. Die Arterie wird danach abgeklemmt. Die Durchblutung erfolgt vorläufig weiter auf natürlichem Wege. Es wird sodann eine weite Kanüle in die V. cava oberhalb des Zwerchfells eingebunden und das hier abfließende venöse Blut durch einen Schlauch zwischen den Rippen abgeleitet. Dieses Blut darf im Falle der Defibrinierung zur Durchströmung nicht verwandt werden. Gleichzeitig mit dem Einbinden dieser Kanüle werden Aorta und untere Cava inf. fest zugebunden, wobei die Cava zwischen den Ligaturen durchtrennt wird. Im gleichen Augenblick wird die Durchströmung durch die A. pancreatico-duodenalis eröffnet. Man hat jetzt genügend Zeit, die

beiden Kanülen in die Leberarterie und die Pfortader einzubinden und zu durchströmen. Die Pfortader wird vorher kurz von einem auf dem Operationstisch stehenden Reservoir aus mit Blut durchströmt, die A. pancreatico-duodenalis abgeklemmt, die Leber aus ihrem Bett herausgenommen und in die Apparatur gelegt. Während der Präparation wird also die Durchströmung in keinem Augenblick unterbrochen.

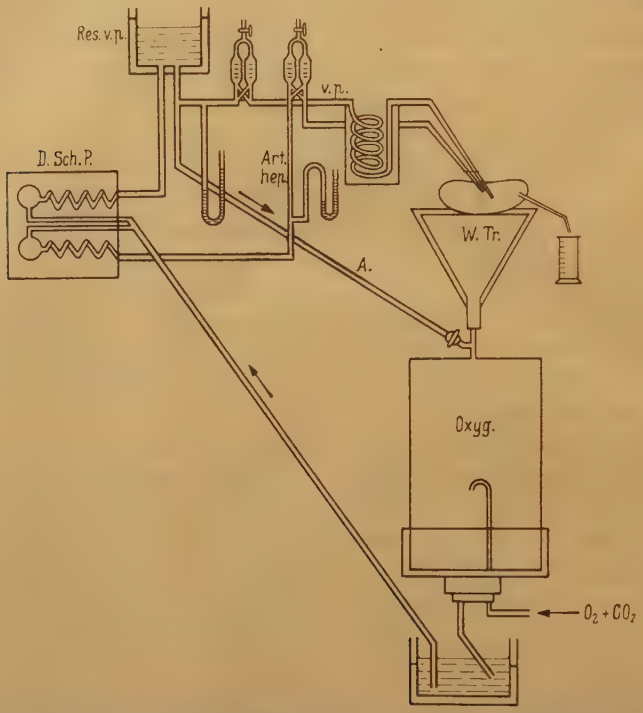


Abb. 1. D. Sch. P. Dale-Schuster-Pumpe; Res. v. p. Reservoir der Ven. portae; W. Tr. Warmwassertrichter, durch den das venöse Blut abläuft. Im Meßzylinder seitlich wird die gebildete Galle aufgefangen. Oxyg. Oxygenerator nach Hooker; A Kurzschluß.

Die Apparatur entspricht im wesentlichen der früheren Anordnung (Abb. 1). Das aus der Lebervene abfließende venöse Blut wird im Hookerschen Oxygenator mit O_2 gesättigt und sammelt sich in einem Thermostaten am Boden an. Von hier aus wird es durch eine Dale-Schuster-Pumpe angesogen und der Leberarterie zugeführt. Zum Teil wird es aber auch in das Pfortaderreservoir gehoben, das gegenüber dem Niveau der Leber etwas erhöht ist. Nachdem es noch einmal eine Wärmschlange passiert hat, fließt es von hier in die V. portae. Das Reservoir und die Pumpe befinden sich in einem Thermostaten, da die genaue Einhaltung einer Durchströmungstemperatur von 38° C von wesentlichem Einfluß auf die Funktion der isolierten Leber ist. Am

Zuführungsschlauch für Arterie und Pfortader ist eine STOLNIKOW-Stromuhr angebracht, die eine Ablesung des Minutenvolumens ohne Unterbrechung des Blutstroms erlaubt. Die Durchströmungsdrucke werden durch Hg-Manometer gemessen. Sie müssen niedrig gehalten werden und sollen bei ausreichendem Durchströmungsvolumen für die Pfortader etwa 10—15, für die Arterie etwa 80—100 mm Hg betragen. Zeigt sich eine Verengerung des Strombettes durch Ansteigen der Drucke an, so kann man mit einem schlecht funktionierenden Präparat rechnen. Den physiologischen Verhältnissen entsprechend wird die Leber also durch die Arterie rhythmisch pulsierend, durch die Pfortader kontinuierlich mit niedrigem Druck durchströmt. Das Gesamtminutenvolumen liegt je nach Größe der Leber etwa zwischen 150 und 300 ccm. Die Beatmung der künstlichen Lunge erfolgte zunächst mit wasserdampfgesättigtem O_2, in den späteren Versuchen jedoch mit Carbogen, einem Gemisch von 95% O_2 und 5% CO_2, da sich der CO_2-Zusatz zur Konstanterhaltung des p_H als nützlich erwies.

Zur Glykogenbestimmung in der Leber entnahmen wir während des Versuches kleine Gewebsstückchen von etwa 1 g, die schnell zerkleinert und sofort in 60% KOH gebracht wurden. Die bei der Gewebsentnahme auftretende Blutung wurde mit dem Thermokauter oberflächlich verschorft. Läßt sich die Blutung an der Schnittfläche nicht ganz beheben, so ist dies für die Blutversorgung nicht von wesentlicher Bedeutung. Das Minutenvolumen muß in diesem Falle so weit gesteigert werden, daß der ursprüngliche Durchströmungsdruck wieder erreicht ist. Die weitere Verarbeitung erfolgte in Anlehnung an die PFLÜGERsche Methode, wobei das Gewebe nach Behandlung im Dampftopf mehrfach mit 96% Alkohol umgefällt und schließlich mit HCl hydrolysiert wurde. Die Zuckerbestimmung erfolgte nach HAGEDORN-JENSEN. Bei jeder Entnahme wurden vier Einzelportionen verarbeitet.

20—30 Min. nach Anschluß der Leber an die Apparatur wurden dem Blut 20—60 ccm 40% Glucoselösung je Liter Blut tropfenweise zugesetzt, nachdem die erste Gewebsentnahme erfolgt war. Weitere Gewebsentnahmen wurden alle 25—30 Min. vorgenommen.

Die Frage der Glykogenverteilung in der Leber ist im Schrifttum lebhaft erörtert worden. Sie ist natürlich von großer Bedeutung, wenn während eines Versuchs fortlaufend verschiedene Leberstückchen auf Ansatz oder Abfall des Glykogens analysiert werden sollen. Die Mehrzahl der Untersucher fand eine gleichmäßige Verteilung (GRUBE[4] MACLEOD und PEARCE[5], OLMSTEDT und COULTHARD[6], EVANS, TSAI und YOUNG[7]). Von NIELSON wird jedoch darauf hingewiesen, daß Differenzen im Glykogengehalt zwischen den hilusnahen Bezirken und dem Rande bestehen können. Das ist verständlich; denn in der Gegend der Leberwurzel treten Gefäße und Bindegewebe gegenüber dem Parenchym

stärker in Erscheinung. Wir haben deshalb auch stets die randnahen Partien zur Entnahme gewählt und überdies die vergleichenden Analysen an ein und demselben Lappen ausgeführt. Dies schien uns deshalb notwendig, weil sich tatsächlich manchmal kleine Differenzen zwischen einzelnen Lappen feststellen lassen. Bleibt man aber beim gleichen Lappen, so ist die Übereinstimmung gut, wovon wir uns an sehr zahlreichen Versuchen überzeugen konnten.

Sowohl das heparinierte wie das defibrinierte Blut zeigt während des Versuches eine leicht steigende Tendenz des p_H. Wahrscheinlich hängt dies mit den CO_2-Verlusten im offenen Durchströmungssystem zusammen. Wir haben deshalb die Beatmung der künstlichen Lunge mit einem Zusatz von 5% CO_2 (Carbogen) vorgenommen. Dabei ließ sich in einer Reihe von Versuchen der p_H-Wert konstant zwischen 7,2 und 7,4 erhalten. In anderen Versuchen stieg er bis 7,5 und 7,6 an. Man kann ihn in diesen Fällen durch Zusatz von kleinen Mengen verdünnter Milchsäure leicht wieder herabsetzen (Gollwitzer-Meier[8]). Wir haben jedoch meist darauf verzichtet, weil wir einen Glykogensturz befürchteten. Tatsächlich scheint ein leichtes Ansteigen des p_H-Wertes, etwa bis 7,5, für die Glykogensynthese der durchströmten Leber nicht ungünstig zu sein, was nach Versuchen über den postmortalen Glykogenzerfall (Pavy und Bywater[9]), am intakten Organismus (Elias[10]) und an der Krötenleber (Snyder, Martin und Levin[11]) zu erwarten war. Eine Abhängigkeit des Glykogenaufbaus von geringen Schwankungen der H-Konzentration ließ sich aber nicht feststellen.

Ergebnisse.

Während es uns zunächst in einer Reihe von Versuchen nicht gelang, einen Glykogenansatz zu erzielen, ließ sich in den späteren Versuchen bei Durchführung der oben beschriebenen Verbesserung der Versuchstechnik stets ein Anstieg des Glykogengehaltes der Leber feststellen. Da die Versuchstiere etwa 48 Stunden gefastet hatten, war der Anfangsglykogengehalt der Leber stets niedrig. Wir haben aber darauf verzichtet, etwa durch Strychninkrämpfe die Leber völlig glykogenfrei zu machen. Die Versuche wurden über eine Zeitdauer von etwa $3^1/_2$ Stunden

Nr.	Lebergewicht g	Zeitdauer Min.	Glykogengehalt der Leber in %		Anstieg g/kg	Anstieg g/kg Min.	Anstieg %
			Anfangswert	Endwert			
8.	340	120	0,481	0,926	4,44	0,0371	+92,5
14.	410	140	0,141	0,558	4,17	0,0297	+296
15.	750	70	0,138	0,510	3,73	0,533	+274
16.	600	80	0,169	0,398	3,97	0,482	+235
17.	700	45	0,108	0,235	1,27	0,283	+118

BOSTON 4 1949

durchgeführt. Bei positivem Versuchsausfall begann jedoch nach 2 Stunden, manchmal auch schon früher, der Glykogengehalt der Leber wieder abzusinken. Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist in den aufgeführten Versuchen der Glykogenansatz nach Glukosezugabe beträchtlich. Er beträgt im Mittel +208%. Während eines Versuches wurden je Kilogramm Leber im Durchschnitt 3,52 g Glykogen gebildet. Das entspricht einer Glykogenmenge von 0,272 g in der Minute. Abb. 2 zeigt einen typisch verlaufenden Versuch.

Wie schon erwähnt, wurde bei Versuchen, an der isolierten Leber Glykogen zu bilden, gewöhnlich die Schildkrötenleber benutzt, während

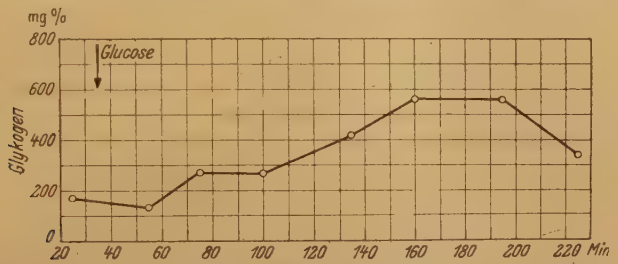


Abb. 2. Glykogenansatz der isolierten Leber nach Glukosezugabe zum Durchströmungsblut.

das Arbeiten mit der Warmblüterleber von vornherein größte Schwierigkeiten machte. Auch GRUBE[13], der sich diesen Versuchen als erster zuwandte, benutzte zunächst die Hundeleber, konnte aber durch Glukosezusatz keine positiven Ergebnisse erzielen und wandte sich dann der Schildkrötenleber zu. Dagegen fand BARRENSCHEEN[14] an der Hundeleber unter Glukose- und Lävuloseeinwirkung einen Glykogenanstieg. BERNHARD[15] berichtet über negative Versuche an der Rattenleber. v. ISSEKUTZ[16] konnte beim Kaninchen, allerdings mit unzureichender Methodik, keinen Ansatz erzielen. Das gleiche gilt von ABELIN[17], der die Kaninchenleber in situ mit Salzlösung durchströmte. Eine wesentliche Besserung der Durchströmungstechnik wurde von BODO und MARKS[3] (s. unten!) eingeführt. Sie konnten an der Hundeleber unter Glucosezugabe einen Glykogenansatz erzielen, der sich allerdings meist in bescheidenen Grenzen hielt. Dagegen berichtet NIELSON[18] über manchmal sehr beträchtliche Glykogenanstiege an der Kaninchenleber.

An unsere eigenen Versuche gingen wir ursprünglich mit der Absicht, die Einwirkung des Nebennierenrindenhormons auf die Glykogenbildungsfähigkeit der Leber zu untersuchen (BRITTON, VERZAR). Leider standen uns nur synthetische Produkte zur Verfügung, da Rindenextrakte, die an sich zum Vergleich notwendig wären, zur Zeit nicht zu beschaffen sind. Unsere Versuche mit Desoxycorticosteronacetat fielen sämtlich negativ aus. Jedenfalls ließ sich niemals eine Beeinflussung des

Glykogengehaltes der Leber im positiven Sinne feststellen. Wir verwandten in 10 Versuchen ein wasserlösliches Desoxycorticosteronacetat der Firma Ciba in einer Dosierung zwischen 20 und 60 mg, das wir nach vorheriger Glukosezugabe dem Durchströmungsblut zusetzten, nachdem wir in einer genügend langen Vorperiode die Glykogenbildung beobachtet hatten. Diese lange Vorperiode, in der wir 3mal den Leberglykogengehalt untersuchten, scheint uns von Wichtigkeit, wenn man überhaupt Aussagen über eine Beeinflussung machen will. Aber auch bei frühzeitiger Zugabe des Präparates ließ sich kein positiver Befund erheben. Weder war bei steigendem Glykogengehalt eine Beschleunigung festzustellen, noch ließ sich bei fallendem Glykogengehalt das Absinken verhindern. Wir müssen allerdings die Frage offen lassen, ob sich durch einen Extrakt der Nebennierenrinde nicht doch an unserem Leberpräparat ein Glykogenanstieg erzielen ließe, da wir einen solchen Extrakt nicht beschaffen konnten. Inzwischen haben Corey und Britton[19] über solche Versuche berichtet. Sie durchströmten Katzenlebern mit einer Lösung von Ringer, Glukose und Gummilösung. Dabei fanden sie im Durchschnitt einen Glykogenanstieg von 1,06 auf 1,19%. Setzten sie in anderen Versuchen einen Extrakt der Nebennierenrinde zu, so ergab sich ein Anstieg von 0,75 auf 1,19%. Untersuchungen mit Desoxicorticosteron hatten keinen Erfolg. Wenn auch die Versuche mit dieser letzten Substanz mit unseren Ergebnissen übereinstimmen, so glauben wir doch nicht, daß mit ihren Versuchen die Frage geklärt ist. Einmal ist ihre Versuchsdauer zu kurz gewählt. Der ganze Versuch dauerte bei ihnen nämlich nur 15 Min., eine viel zu kurze Zeit, um etwas über den endgültigen Anstieg oder Abfall des Glykogengehaltes aussagen zu können, zumal gerade zu Beginn oft Schwankungen eintreten. Wie man aus unseren Protokollen ersieht, zieht sich der Glykogenanstieg oft über 2 Stunden und darüber hin. Zweitens haben sie ganz auf die unerläßliche Vorperiode als Kontrolle vor Zugabe des Hormons verzichtet. Sie müssen deshalb verschiedene Leberpräparate mit und ohne Hormonzugabe miteinander vergleichen. Das ist aber nicht zulässig. Jeder, der Erfahrungen mit isolierten Organen hat, weiß, wie sehr der Stoffwechsel von Fall zu Fall schwankt und daß man nur Schlüsse auf Grund einer Vorperiode am gleichen Präparat ziehen kann, es sei denn, daß man sehr große Serien miteinander vergleicht, so daß man eine statistische Auswertung vornehmen kann. Das haben sie aber nicht getan (je 5—7 Versuche). Außerdem muß die Durchströmung einer Säugetierleber mit Ringerlösung an sich schon Bedenken erregen. Die Frage wird also wohl offen bleiben, bis Rindenextrakte wieder zur Verfügung stehen und in langfristigen Versuchen geprüft werden können. Hinsichtlich des synthetischen Produktes läßt sich aber jetzt schon sagen, daß es an der isolierten Leber unwirksam ist. Über unsere

Ergebnisse haben wir aber vor allem deshalb berichtet, weil sie zeigen, daß man auch bei dem aus dem Zusammenhang gelösten Organ unter geeigneten Versuchsbedingungen einen sehr beträchtlichen Glykogenansatz erreichen und dieses Präparat für entsprechende Fragestellungen mit Vorteil verwenden kann.

Zusammenfassung.

An der isolierten Hundeleber lassen sich nach Glukosezusatz zum Durchströmungsblut erhebliche Glykogenansätze bei geeigneter Technik erzielen. Der Anstieg lag in unseren Versuchen zwischen +92 und +296% des Ausgangswertes, im Mittel bei +208%. Während eines Versuches wurden im Durchschnitt 0,27 g Glykogen je Minute und Kilogramm Organgewicht gebildet.

Durch wasserlösliches Desoxycorticosteronacetat ließ sich die Glykogenbildung weder beschleunigen, noch ließ sich bei fallendem Glykogengehalt das Absinken verhindern. Kontrollversuche mit Rindenvollextrakt konnten vorderhand nicht durchgeführt werden, da die Extrakte zur Zeit nicht zu beschaffen sind.

Die Durchströmungsmethodik wird eingehend beschrieben.

Literatur.

[1] Oberdisse, K. u. M. Eckardt: Z. klin. Med. **132**, 762 (1937). — [2] Oberdisse, K. u. J. N. Paraskevopoulos: Z. exper. Med. **102**, 374 (1938). — [3] Bodo, R. and P. H. Marks: J. Physiol. (Brit.) **65**, 48 (1928). — [4] Grube, K.: Pflügers Arch. **107**, 483 (1905). — [5] MacLeod, J. J. R. and R. G. Pearce: Amer. J. Physiol. **27**, 341 (1911). — [6] Olmstedt, J. M. D. and H. S. Coulthard: Amer. J. Physiol. **83**, 513 (1928). — [7] Evans, L. C., Ch. Tsai and F. G. Young: J. Physiol. (Brit.) **73**, 67 (1931). — [8] Gremels, H. and H. E. Starling: J. Physiol. (Brit.) **61**, 297 (1926). — [9] Gollwitzer-Meier, Kl., H. Häussler u. E. Krüger: Pflügers Arch. **239**, 120 (1935). — [10] Pavy, F. W. and H. W. Bywater: J. Physiol. (Brit.) **41**, 183 (1910). — [11] Elias, H.: Biochem. Z. **48**, 120 (1913). — [12] Snyder, C. D., L. E. Martin and M. Levin: Amer. J. Physiol. **62**, 442 (1922). — [13] Grube, K.: Pflügers Arch. **107**, 490 (1903). — [14] Barrenscheen, H. K.: Biochem. Z. **58**, 277 (1913). — [15] Bernhard: Biochem. Z. **157**, 396 (1925). — [16] Issekutz, B. v.: Biochem. Z. **183**, 283 (1927). — [17] Abelin, J.: Biochem. Z. **74**, 248 (1916). — [18] Nielson, R. A.: Skand. Arch. Physiol. (D.) **66**, 1 (1933). — [19] Corey, E. L. and S. W. Britton: Amer. J. Physiol. **131**, 783 (1941).

Versuche zur Frage des Einflusses der chronischen Nikotinschädigung auf Fruchtbarkeit und Nachkommenschaft*.

Von

R. Hotovy.

(Eingegangen am 15. Januar 1945.)

Kaven hat in einer großen Versuchsreihe an Mäusen zeigen können, daß das Nikotin bei chronischer Zufuhr in der angewandten Dosierung keinen Einfluß auf die Nachkommenschaft ausgelöst hat. Nur wenn beide Eltern mit Nikotin behandelt wurden, war eine Herabsetzung der Wurfzahl aufgetreten und auch das Alter der Eltern beim ersten Wurf war etwas heraufgesetzt. Bei diesen Versuchen wurde das Nikotin als salzsaures Salz einmal täglich rektal verabreicht. Für die Beurteilung der chronischen Nikotinwirkung ist wohl eine häufigere Zufuhr von Nikotin von besonderer Bedeutung. Es wurden daher Versuche angestellt, die einen Aufschluß geben sollten, ob eine mehrmalige tägliche Nikotinbelastung in Dosen, die in der Regel Krämpfe hervorrufen, eine Schädigung der Fruchtbarkeit bzw. der Nachkommen herbeiführen.

Methodik.

Als Versuchstiere wurden zwei verschieden gefärbte Rattenstämme (Färbung: fahlsepia/weiß und dunkelaguti/weiß) verwendet. Die Ratten stammten aus drei sehr lange ingezüchteten Rattenfamilien (fsw. 60, 59 und dgw. 21). Es wurden sämtliche, sowohl die Weibchen als auch die Männchen einschließlich der Jungtiere mit einem Gewicht über 60 g mit vier subkutanen Injektionen an 6 Tagen in der Woche behandelt. Die Injektionen erfolgten in der Regel seitlich unter die Haut des Rumpfes. Die subkutane Injektion wurde gewählt, um eine verlustsichere Applikation mit Umgehung der Leber zu erzielen, auch wenn eine solche Behandlungsweise dem Rauchen beim Menschen widerspricht.

Das Nikotin (Nikotin. pur. *Merck* und *Kahlbaum*) wurde als Base gelöst in physiologischer Kochsalzlösung verabreicht. Die Dosis betrug 0,3 mg Nikotinbase pro 100 g Ratte in einer Konzentration von 1,2‰ in physiologischer Kochsalzlösung (die mittlere letale Dosis betrug 3,9 mg/100 g Körpergewicht).

Zur Kontrolle bekamen im Parallelversuch die Ratten dieselbe Menge physiologischer Kochsalzlösung, und eine weitere Gruppe von Kontrolltieren derselben Inzuchtstämme erhielten keinerlei Injektion. Die äußeren Verhältnisse wurden möglichst gleichmäßig gehalten.

---

* Die Versuche wurden am Pharmakologisch-pharmakognostischen Institut (Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky) und am Institut für Erb- und Rassenhygiene (Direktor: Prof. Dr. K. Thums) der ehemaligen deutschen Karls-Universität, Prag, durchgeführt.

Das Futter bestand in der Regel aus Küchenabfällen, Gerste, Hafer, Kartoffel, Futterrübe und Brot. In gewissen Zeitabständen wurde Lebertran dem Futter zugesetzt. Die öfters auftretende Rattenräude wurde mit sehr gutem Erfolg mit Novoscabin (Benzoylbenzoat, Methylestern und Paraffinöl) behandelt.

Vor dem eigentlichen Hauptversuch wurde ein Vorversuch mit Albinoratten aus der Institutsinzucht angestellt.

In den Parallelversuchen an den drei Rattenstämmen wurden folgende Größen festgestellt: Wurfgröße, Wurfhäufigkeit, Zeitpunkt für das Auftreten des ersten Wurfes, Zahl der Jungen, Geburtsgewicht, Zahl der überlebenden Tiere in den ersten 4 Wochen und Zahl der Überlebenden überhaupt.

Ergebnisse.

Im Vorversuch hatte es den Anschein, daß entsprechend den Ergebnissen von Kaven die mit Nikotin behandelten Tiere teilweise eine bessere Entwicklung betreffs Vitalität und Wurfgröße im Laufe von zwei Generationen zeigten. Im Hauptversuch (drei Generationen) dagegen konnte dies nicht mehr festgestellt werden. Es zeigte sich nämlich, daß bei den Nikotintieren eine große Mortalität unter den Jungen zu beobachten war. Bereits in den ersten 4 Wochen starb eine größere Zahl, später starben noch mehr Tiere. Aber auch bei den Kontrolltieren, die nur Injektionen physiologischer Kochsalzlösung bekamen, wurde dieselbe Mortalität festgestellt. Dagegen zeigten die völlig unbehandelten Tiere eine nur geringe Mortalität. Diese Beobachtungen ließen sich an verschiedenen Generationen feststellen. Bei 483 vergleichbaren Ratten, die täglich Injektionen bekamen (313 mit Nikotin behandelte und 170 Kochsalz-Kontrollratten), betrug die Mortalität 64%, bei 32 Tieren ohne Injektion war die Mortalität 14%. Bei den mit Kochsalz behandelten Tieren sind dabei 1,4% und bei den mit Nikotin behandelten 8,75% der gestorbenen Ratten von den Muttertieren aufgefressen worden.

Die übrigen festgestellten Größen: Zahl der Jungen, Zahl der Überlebenden in den ersten 4 Wochen, Zahl der Überlebenden überhaupt, Geburtsgewicht, Wurfgröße und Wurfhäufigkeit zeigten *keine* Unterschiede gegenüber den Kontrolltieren, nur mit *einer* Ausnahme, daß *der Zeitpunkt für das Auftreten des ersten Wurfes bei den Nikotintieren anscheinend etwas hinausgeschoben* war. In der Regel betrug das Auftreten des ersten Wurfes bei den nicht mit Nikotin behandelten Ratten 4 Monate (15 Würfe), während er bei den mit Nikotin behandelten Tieren in der Regel 5 Monate (25 Würfe) betrug, doch sind Werte von 7—8 Monaten nicht selten gewesen.

Besprechung der Ergebnisse.

Auf Grund der Versuche kann der Schluß gezogen werden, daß die häufigen subkutanen Injektionen von physiologischer Kochsalzlösung für die Tiere nicht gleichgültig gewesen sind und daß die hohe Mortalität

der Ausdruck einer Schädigung ist. Ob es sich dabei um eine Schädigung durch die Kochsalzlösung als solche handelt, ist nicht ohne weiteres zu entscheiden. Vielleicht spielt die häufig injizierte Flüssigkeitsmenge dabei eine Rolle, daß durch sie das Wohlbefinden beeinträchtigt wurde.

Auf Grund der Versuche kann der Schluß gezogen werden, daß die gewählte Versuchsanordnung nicht geeignet war, die Frage der chronischen Nikotingiftwirkung zu klären. Die Wirkung der häufigen Injektionen verschleiert schon allein vollständig die eventuell vorhandene Nikotinschädigung; denn bei einer so hohen Mortalität der gleichartig behandelten Kontrolltiere lassen sich kaum weitere Ausschläge durch eine eventuell auftretende Nikotinwirkung erwarten.

Immerhin konnte *übereinstimmend mit den Versuchen von* Kaven gefunden werden, daß das Nikotin den Zeitpunkt des Auftretens des ersten Wurfes hinausschob.

Ob die rektale oder orale häufigere Zufuhr von Nikotin eine bessere Zuführungsart sein würde als die subkutane, läßt sich vorläufig nicht entscheiden.

Zusammenfassung.

1. Die viermaligen täglichen Injektionen von physiologischer Kochsalzlösung (je 0,25 ccm/100 g Ratte) haben Schädigungen der Vitalität hervorgerufen.

2. Inzuchtratten wurden drei Generationen lang mit Nikotinbase (0,3 mg/100 g Ratte 4mal täglich subkutan) behandelt. Dabei ließ sich außer dem Hinausschieben des Termines des ersten Wurfes keine Beeinflussung der Vitalität, Fertilität und kein Erbschaden als Folge einer Nikotingiftwirkung feststellen. Allerdings waren bei der hohen Mortalität der mit Kochsalzinjektionen behandelten Kontrolltiere kaum weitere Ausschläge durch eine eventuell auftretende Nikotinwirkung zu erwarten.

Die Arbeit von A. Kaven soll (mit ausführlichen Literaturangaben) später erscheinen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn.

Zur Substratsteuerung des Stoffwechsels und ihrer therapeutischen Anwendung am Menschen*.

Von

HANS GREMELS.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Mai 1947).

Nach der Aufklärung der vegetativ-hormonalen Stoffwechselsteuerung durch Versuche am STARLINGschen Herz-Lungenpräparat des Hundes und ihrer Übertragung auf das ganze Tier (Katze und Hund) war es uns[1-8] gelungen, als *Hauptregulatoren* die Grundnährstoffe der *Monosaccharide* und *Aminosäuren* festzustellen. Die *positiv spezifisch-dynamische Wirkung* tritt beim Überangebot eines Nährstoffes ein und wurde als Zeichen einer Luxuskonsumption gedeutet. Sie ist nach unseren Stoffwechselanalysen[8] gleichbedeutend mit einem Überwiegen der sympathikotonen oder adrenergischen Stoffwechselphase der dissimilatorischen Leistungssteigerung, wie sie durch eine Erhöhung der Verbrennungen und Mobilisierung der Energievorräte des Organismus charakterisiert wird. Die *negativ spezifisch-dynamische Wirkung* tritt beim Normal- oder Unterangebot eines Nährstoffes ein und ist nach unseren Feststellungen mit dem Überwiegen der vagotonen oder cholinergischen Stoffwechselphase oder der assimilatorischen Leistungsanpassung gleichbedeutend, die durch die Sparwirkung an den Verbrennungsvorgängen und die Speicherung der Nahrungsstoffe eine Bereitstellung der Energiereserven des Körpers bewirkt. Wir[8] waren nach unserer Beobachtung zu dem Schluß gekommen, daß es neben der Stoffwechselsteigerung durch die Zufuhr der genannten Substrate, die als *spezifisch dynamische Wirkung* schon lange bekannt waren, unter geeigneten Bedingungen auch zu ausgesprochenen Senkungen des Umsatzes kommen kann, die wir auch als *negativ spezifisch-dynamische*

* Sir HENRY DALE als ein Zeichen meiner tiefen Dankbarkeit und aufrichtigen Verehrung gewidmet.

[1] GREMELS: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 689 (1933). — [2] GREMELS: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — [3] GREMELS: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 1 (1936). — [4] GREMELS: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 625 (1937). — [5] GREMELS: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 1 (1937). — [6] GREMELS: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 79 (1937). — [7] GREMELS: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 629 (1940). — [8] GREMELS: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **203**, 225 (1944).

Wirkung bezeichnen. Aus früheren Untersuchungen von RUBNER [9], LUSK [10], BORNSTEIN [11] wissen wir, daß die positiv spezifisch-dynamische Wirkung der *Fette* mit 1—4% des Umsatzes sehr klein ist. RUBNER [9] stellte als erster auch eine Senkung, d. h. nach unserer Auffassung eine negativ spezifisch-dynamische Wirkung der Fette bis zu 4% fest, die von GIGON [12] mit einer Umsatzsenkung in den Grenzen von 1—3% bestätigt wurde.

Aus diesem Grunde konnten wir [8] den Begriff der spezifisch-dynamischen Wirkung klären und dahin erweitern, daß die *spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe der quantitative Ausdruck ihres Stoffwechselsteuerwertes ist.*

Die *Substratsteuerung* erscheint uns als ein *Zentralproblem* des Stoff- und Energiewechsels im Tierreich. Es lag nahe, die im Tierversuch gesammelten Erfahrungen auf den gesunden und kranken Menschen zu übertragen. Wie wir im Folgenden sehen werden, ist eine solche Übertragung durchaus und sogar in weitgehendem Maße möglich. Wir betonen diesen Zusammenhang deshalb so eingehend, weil die Behauptung ihres Gegenteils zu oft und eindringlich gemacht worden ist.

Die Feststellung, daß der Mensch und besonders der Kranke mit seinen Reaktionen nicht mit den im Tierversuch gemachten Beobachtungen identifiziert werden dürfe, ist genau so sachlich richtig wie gedanklich inhaltlos. Es kommt doch hierbei sehr darauf an, wie und von wem diese Versuche und ihre Übertragung unternommen werden. Wir haben immer die Ansicht vertreten, daß der sorgfältig und sinnvoll angestellte Tierversuch die Grundlage aller naturwissenschaftlichen neuen Erkenntnisse abgibt. Die Übertragung auf den Menschen hat zuerst im Selbstversuch zu erfolgen, dann erst rechtfertigt sich die Anwendung derart erkannter Prinzipien am kranken Menschen, der uns ja unserer Hilfe und nicht unseres Wissensdurstes wegen aufsucht. Der Selbstversuch kann durchaus vor dem Tierversuch unternommen werden, ebenso wie Beobachtungen am Kranken uns richtungsweisend helfen können.

Zur *Methodik* ist zu sagen, daß der Stoffwechsel nach dem ZUNTZ-GEPPERT oder KROGHschen *Prinzip*, die Blutzucker nach HAGEDORN-JENSSEN und der *Blutalkohol* nach WIDMARCK bestimmt wurden.

Bei zahlreichen Patienten haben wir neben der Puls- und Temperaturkurve *Gewichtskurven* als Hauptfaktoren zur Beurteilung des Stoffwechselverhaltens benutzt. Wie ich an anderer Stelle [13] dargetan habe und in voller Übereinstimmung mit meinem verstorbenen Lehrer

---

[9] RUBNER: Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung. Leipzig u. Wien 1902. — [10] LUSK: The science of nutrition. London u. Philadelphia 1919. — [11] BORNSTEIN: Biochem. Z. **130**, 209 (1922). — [12] GIGON: Pflügers Arch. **140**, 1 (1911). — [13] GREMELS: Dtsch. Z. Chir. **250**, 184 (1943).

Bornstein, halte ich Untersuchungen des respiratorischen Stoffwechsels an *ungeübten* Patienten für zu unsicher und daher für wissenschaftliche Zwecke nur sehr bedingt brauchbar. Gewichtskurven über lange Zeit sind hingegen außerordentlich verläßlich für die Beurteilung des Stoffwechselgeschehens am gesunden und kranken Menschen.

Die Verbrennung von Trauben- und Fruchtzucker.

Wie wir an anderer Stelle [8] bereits zeigten, besteht ein grundsätzlicher Unterschied zwischen der Verbrennung und der Verwertung eines Zuckers. Wie Bornstein und seine Schüler zeigen konnten, beginnt die Traubenzuckerverbrennung 1 Stunde nach der Zufuhr und erreicht ihre Höhe nach etwa 3 Stunden. Die *Traubenzuckerhyperglykämie* ist intensiv und läuft der Verbrennung *voran*. Es wurde dies Verhalten am Menschen und Stoffwechselhund und Katze von Bornstein [11] und mir beobachtet. Aus einem Menschenversuch und einem Vergleichsversuch an der Katze geht ganz klar hervor, daß die Blutzuckerkurve und der Sauerstoffverbrauch der Katze prinzipiell den gleichen Charakter zeigen wie die entsprechenden Beobachtungen am Menschen. Die Anfangszacke des Sauerstoffverbrauchs fällt mit einer entsprechenden *Ventilationserhöhung* zusammen. Wie wir bereits andeuteten [8], ist sie durch die Aufnahme (Magenfüllung) und die Resorption des Zuckers und die wasserbindende Kraft des resorbierten Zuckers bedingt. Wir bringen in einer anderen Arbeit beweisende Argumente für die hierdurch bedingte Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge, die ihrerseits zu einer *Mehrarbeit des Herzens* führt die ebenso wie die *vermehrte Atemarbeit* für den erhöhten *Sauerstoffverbrauch* verantwortlich ist. Erst durch den respiratorischen Quotienten (RQ) wird klar, daß die Zuckerverbrennung später einsetzt, und zwar fängt sie nach 1 Stunde an, um ihren *Höchstwert* erst nach 3 Stunden mit dem Abklingen der Hyperglykämie zu erreichen.

Im Menschenversuch beträgt nach peroraler Zufuhr von 100 g Dextrose in 200 ccm Flüssigkeit der primäre Anstieg des Sauerstoffverbrauchs 14,3% des Gundumsatzes, wovon etwa 2% auf die Atemmehrarbeit entfallen. Bei der Katze und einer intravenösen Zufuhr einer blutisotonischen Lösung von 4,0 g Dextrose macht der primäre Anstieg des O_2-Verbrauchs 12,2% des Ausgangsumsatzes aus, liegt also in einer ähnlichen Größenordnung wie beim Menschen. Die beiden Blutzuckerdifferenzkurven zeigen eine erhebliche und langdauernde Hyperglykämie an, deren Maxima *hinter* den Sauerstoffverbrauchsanfangssteigerungen und *vor* der *eigentlichen Zuckerverbrennung* liegen, wie sie aus dem ansteigenden RQ zu ersehen ist. Die Anfangszacke der Umsatzsteigerung ist bei Mensch und Tier gleichermaßen ausgesprochen. Die anfängliche Senkung des RQ ist, wie aus den zahlreichen Versuchen

von BORNSTEIN[11] ersehen werden kann, durch die Abatmung von Kohlensäure infolge der sympathikotonen Ventilationssteigerung bedingt. Die gemeinsame Betrachtung zweier analoger Lävuloseversuche an Mensch und Katze zeigt die *Sofortverbrennung* der *Lävulose* durch den simultanen Anstieg des RQ an. Beim Menschen fällt die Anfangszacke der Umsatzsteigerung mit der spezifisch dynamischen Wirkung durch die Lävuloseverbrennung zusammen. Nur im Katzenversuch sind die beiden Umsatzsteigerungen deutlich getrennt erkennbar. Die Blutzuckerdifferenzkurven nach Lävulose ergeben deutlich erkennbare Unterschiede gegenüber denen nach Dextrose insofern, als sie am Menschen nur eine geringgradige Hyperglykämie und an der Katze eine kurzdauernde anzeigen, die im letzteren Falle von einer ausgesprochenen hypoglykämischen Reaktion gefolgt ist. Die Maxima der Blutzuckerkurven fallen mit denen der Umsatzsteigerung zusammen. Infolge der Sofortverbrennung der Lävulose ist eine klare Trennung der Ursachen der Verbrennungssteigerung schwerer möglich als bei der Dextrose. Während den Beobachtungszeiten finden wir am Menschen unter Einbeziehung der BORNSTEINschen[11] Versuche nach der 3. Stunde eine ausgesprochene Senkung des Umsatzes unter den Grundumsatzausgangswert, die im vorliegenden Falle bis 13,2% beträgt. In zwei anderen Versuchen beträgt diese „negativ spezifisch-dynamische Wirkung" —14,2% bis —17,1% des Grundumsatzes. Aus den Tabellen HOLMS[14] Selbstversuchen (2 und 3) lassen sich Werte von —15,1 und —17,1% errechnen, und aus einem Hundeversuch (5) eine Umsatzsenkung von — 20,7%. Auf der Grundlage unserer Untersuchungen[8] ergibt sich also die Möglichkeit, aus dem überaus wertvollen und zuverlässigen Zahlenmaterial der Tabellen in den Arbeiten von BORNSTEIN[11] und HOLM[13] nachträglich Beweiszahlen am Menschen und Hund für die „negativ spezifisch-dynamische Wirkung" zu errechnen. Es zeigt sich hierbei, daß die spezifisch-dynamische Wirkung als Ausdruck des *Stoffwechselsteuerungswertes* auch quantitativ insofern zutreffend ist, als in den Lävuloseversuchen ihre höhere spezifisch-dynamische Wirkung sich an den Sauerstoffverbrauchssenkungen innerhalb der Beobachtungsperioden geltend macht.

Die *physiologische Wertigkeit* eines *Nahrungsgrundstoffes* hängt also nicht allein von dem kalorischen Äquivalent seiner Gewichtseinheit ab, sondern wird zu einem andern Teil von den *Zeitfaktoren* seiner *Verbrennung* bzw. *Speicherung* bestimmt, die zum Teil von der Schnelligkeit seiner Spaltung und darauffolgenden Resorption abhängig ist. Die Lävulose ist daher ein physiologisch genau so hochwertiges Brennmaterial wie die Dextrose. Bei der therapeutischen Anwendung solcher Körper verdienen diese Gesichtspunkte erhöhte Bedeutung. So ist

[14] HOLM: Z. exper. Med. 37, 43 (1923).

besonders auch das gegenüber der Dextrose *viel kleinere Insulinäquivalent* der *Lävulose* von großer Wichtigkeit. Mit anderen Worten, der Insulinbedarf für eine bestimmte Gewichtsmenge Lävulose, den sie zu ihrer Verwertung in einer Speicherung und Verbrennung braucht, ist wesentlich geringer als für die gleiche Dextrosemenge. Aus der Insulintoxikologie, d. h. bei endogenem oder exogenem Hyperinsulinismus läßt sich nur die Wirksamkeit der Zucker auf die Beseitigung des resultierenden hypoglykämischen Insulinsymptomenkomplexes ableiten. Hier steht die Dextrose an der Spitze aller Monosaccharide, während der Lävulose eine schwächere Wirkung zukommt. Zahlreiche Beobachter haben geglaubt, aus dieser Wirksamkeit einen Rückschluß auf die physiologische Wertigkeit ziehen zu können, was nach unserer Auffassung nicht zutreffend ist. Das Symptomenbild der Insulinvergiftung ist nach unseren Überlegungen[15] zum Teil durch eine *gegenregulatorische* sympathikotone Erschöpfung der akut verfügbaren Kohlehydratenergiereserven des Organismus bedingt; nach der Auffassung Macleods[16] treten Insulinkrämpfe nur bei einer sehr schnellen Blutzuckersenkung auf. Wir sehen in den Insulinkrämpfen das Zeichen eines akuten Kohlehydratmangels des Gehirns, das so gut wie keine *eigene Glykogenreserve* besitzt und daher auf die Brennmaterialzufuhr aus dem Blut angewiesen ist. Das *Kohlehydrathauptreservoir* für das *Nervensystem,* insbesondere das *Gehirn* ist aber die Leber, aus der ja die primäre Zuckermobilisierung erfolgt. Die überaus starke Verbrennungssteigerung bei Insulinüberdosierung ist eine *adrenergische Gegenregulationserscheinung,* die zu einer Erschöpfung des Kohlehydratspeichers führt, die in der starken Glykogenverarmung der Leber ihren besonders deutlichen Ausdruck findet und als eine *funktionelle Leberinsuffizienz* angesprochen werden kann. Infolgedessen kommt es zum *Blutzuckersturz,* der die Konzentrationsgefällerichtung Blut—Gewebe herabsetzen bzw. aufheben muß. Dieser Brennstoffmangel erreicht dann für das recht glykogenarme, d. h. praktisch eigenbrennstofffreie Gehirn einen funktionshemmenden Grad, der sich in Krämpfen bzw. komatösen Zuständen ausdrückt. Die Dextrosezufuhr ist nun mit einer starken Hyperglykämie verbunden, deren Diffusionshemmung als Sofortwirkung in Erscheinung tritt. Als gleich bedeutsam folgt eine funktionelle Bindung des überschüssigen Insulins durch das hohe Insulinäquivalent der Dextrose, dabei kommt es zur assimilatorischen Gegenregulation der Glykogenspeicherung, die die Grundursache der hypoglykämischen Symptome aufhebt.

Die *Hyperglykämie* nach äquivalenten Lävulosemengen ist wesentlich geringer, außerdem ist ihr Insulinäquivalent viel kleiner als das

[15] Gremels: Erg. Physiol. **42**, 51 (1939). — [16] Macleod: Carbohydrate Metabolism and Insulin. (Deutsch: Kohlehydratstoffwechsel und Insulin. Übersetzt von Gremels.) Berlin: Springer 1926.

der Dextrose. Hieraus läßt sich ihre geringere Wirksamkeit bei der Insulinvergiftung verstehen. Wir haben ja in 10 Versuchen mit je 3 g/kg Dextrose bzw. Lävulose die Blutzuckerkurve am Hunde bestimmt, die Flächenintegrale der Hyperglykämiekurven wie Lävulose: Dextrose verhalten sich wie 1:1,994, d. h. rund wie 1:2. Wenn wir hieraus die antiinsuläre Wirksamkeit der beiden Zucker ableiten, so würde das funktionelle Lävuloseäquivalent bei der Insulinvergiftung um zweimal größer sein müssen, als das der Dextrose. Eine experimentelle Nachprüfung erscheint lohnend, weil die bisherigen Angaben nur von einer wesentlich schwächeren insulinantitoxischen Wirkung der Lävulose ohne nähere quantitative Vergleiche sprechen.

Was den weiteren Zusammenhang des Kohlehydratstoffwechsels von *Gehirn* und *Leber* angeht, so möchten wir hier nur auf die Ähnlichkeit des hypoglykämischen Symptomenbildes bei der von MANN und MAGATH [17] ausgeführten Totalexstirpation der Leber am Hund hinweisen. Hier entwickelt sich nun infolge einer *totalen strukturellen Leberinsuffizienz* ein Coma hepaticum, das vorübergehend durch intravenöse Dextroseinfusionen vollkommen aufgehoben werden kann. Durch Lävuloseinfusionen läßt sich diese Art der hypoglykämischen Symptome nicht merkbar beeinträchtigen. Diese Beobachtungen sprechen nicht gegen den Wert der Lävulose als Brennmaterial. Vielmehr ist man versucht, hier wiederum an die eben erwähnte osmoregulatorische Rolle der Dextrose zu denken, denn die vorübergehende Restitution der Leberinsuffizienzerscheinungen ist an die Erhöhung des Blutzuckerniveaus gebunden. Auch möchten wir an dieser Stelle an die grundlegenden und außerordentlich wichtigen Untersuchungen von C. F. und G. T. CORI [17a] über die Resorption und Verwertung der verschiedenen Monosaccharide hinweisen, in denen auch das Verhalten der Lävulose eine entsprechende Würdigung erfährt. Welche näheren Beziehungen zwischen der funktionellen und strukturellen Leberinsuffizienz besteht, muß einer weiteren experimentellen Klärung vorbehalten bleiben.

Wie wir schon oben ausführten, ist wohl nach peroraler Zuckerzufuhr am Menschen, wie auch nach intravenöser an der Katze eine vorübergehende Sauerstoffverbrauchssteigerung zu beobachten, die als sympathikotone Wirkung durch ein vermehrtes Zirkulations- und Atemvolumen bewirkt wird. Sie kommt in den Dextroseversuchen klarer zum Ausdruck, während sie in den Lävuloseversuchen durch die sofort einsetzende Verbrennung in den Versuchen am Menschen mit der spezifisch-dynamischen Wirkung zusammenfließt. Diese Reaktion darf nicht übersehen werden und muß bei der Frage der *Zufuhrart* und *Dosierung stoffwechselsteuernder Substrate* berücksichtigt werden. Wir

[17] MANN u. MAGATH: Erg. Physiol. **23**, 212 (1924). — [17a] CORI: J. biol. Chem. (Am.) **76**, 755 (1928) u. a.

möchten an dieser Stelle darauf hinweisen, daß auf dem Wege der Beeinflussung energetischer Vorgänge zahlreiche in ihrem Dienste stehende und vegetativ-hormonale Funktionen mitgesteuert werden. An erster Stelle ist hier der Kreislauf zu nennen, der ja zwangsläufig mit einer Erhöhung des Umsatzes eine Vermehrung erfährt. Wir werden weiter unten noch näher auf diese Frage eingehen.

Die Verwertung von Äthylalkohol allein und im Zusammenhang mit Zuckergemischen.

Im Blut des nüchternen Menschen und Tieres sind immer Spuren von 0,001—0,005% Äthylalkohol nachweisbar. Dies bedeutet, daß der Alkohol als normales Intermediärprodukt des Stoffwechsels gelten darf. Seine Verbrennung erfolgt über den Azetaldehyd und die Essigsäure. Wie aus den Versuchen von Bornstein und Loewy[18] u. a. hervorgeht, verbrennt der Alkohol *vor* allen anderen Brennstoffen, was sich auch aus dem Verhalten des RQ (Abb. 1, Kurve 3), der dem Werte von 0,668 zustrebt, ergibt. Wie aus der zugehörigen Blutalkoholkurve zu ersehen ist (Abb. 1, Kurve III), hält die Alkoholverbrennung so lange an, wie der Blutalkohol erhöht ist. Die Blutalkoholkurve verläuft also synchron mit der Alkoholverbrennung. In diesem Falle wurde zur Verdeutlichung der Senkung des RQ durch Alkohol von Versuchsbeginn $^1/_2$stündlich 25 g Saccharose (Rohr- oder Rübenzucker) gegeben, da durch diesen Kunstgriff ein hoher RQ erzielt wird. Wird Alkohol in der gleichen Menge von 30 g allein gegeben, so erfolgt insofern eine Änderung, als die Blutalkoholkurve (Abb. 1, Kurve 1) um etwa 25% höher ansteigt und nach 6 Stunden noch nicht den Nüchternwert erreicht hat. Wenn anstatt 30 g nur 20 g Alkohol (Abb. 11, Kurve II) gegeben werden, so ergibt sich ein nahezu proportionales Verhalten des Blutalkohols, d. h. die Kurve der Alkoholwerte liegt etwa 25% tiefer, der zeitliche Verlauf ist aber ein ähnlicher. Bei der gleichzeitigen Saccharosezufuhr sahen schon Bornstein und Loewy[18] eine Veränderung der Alkoholkurve derart, wie sie aus dem obigen Beispiel (Abb. 1, Kurve III u. 3) hervorgeht. Die Alkoholmenge von 30 g erhöht in diesem Falle den Blutalkohol nur auf 0,078% gegenüber 0,098%, d. h. der Wert liegt etwa 20% tiefer als ohne Zuckerzufuhr. Gleichzeitig ist die *Dauer* der *Blutalkoholerhöhung* auf etwa 3 *Stunden verkürzt*. Wir sind diesem Zusammenhange weiter nachgegangen, indem wir an Stelle des Disaccharides Saccharose-Gemische von Alkohol und den Monosacchariden Lävulose und Dextrose gleichzeitig zuführten. Wir haben diese *Grundnährstoffgemische* als *Energetika* bezeichnet und sie in verschiedenen Zusammensetzungen hinsichtlich ihrer *energetischen Steuerwirkung* und *Verwertung* untersucht. Als Energetikum 1 (E_1)

[18] Bornstein u. Loewy: Biochem. Z. **191**.

benutzten wir ein Gemisch von 10% Alkohol und je 15% Lävulose und Dextrose. Führt man nun die gleiche Menge Alkohol von 20 g wie im Versuch Abb. 1, Kurve III in Form von 200 ccm E_1 zu (Abb. 1, Kurve IV), so sieht man, daß die Blutalkoholkurve nur einen geringgradigen Anstieg auf 0,015% aufweist. Die Erhöhung des Blutalkoholwertes liegt um 80% niedriger als bei der Zufuhr der gleichen Menge reinen Alkohols. Die in Abb. 1 in Selbstversuchen beobachteten Werte wurde in weiten Abständen an der gleichen Versuchsperson gewonnen. In ähnlichen Versuchen an 4 weiteren Personen wurde prinzipiell das

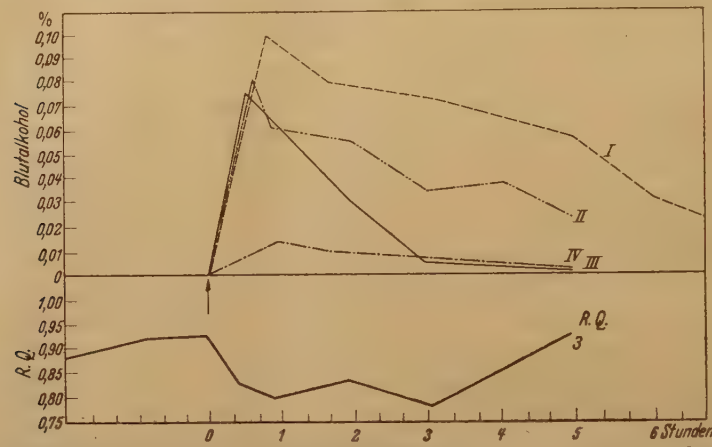


Abb. 1. Sämtliche Versuche an einer Versuchsperson G. ———— 30 ccm Alkohol in 200 ccm Aqua dest. I; ——— 30 ccm Alkohol, von Versuchsbeginn an ½stündlich 25 g Saccharose III; —·—·— 20 ccm Alkohol in 200 ccm Aqua dest. II; —·—·— 20 ccm Alkohol in 200 ccm E_1 IV; ——— respiratorischer Quotient zu III.

gleiche Verhalten des Blutalkohols beobachtet; so ergaben sich auf 20 g Alkohol in Form von 200 ccm E_1, d. h. mit gleichzeitiger Zufuhr von je 30 g Lävulose und Dextrose nur mäßige Anstiege der Blutalkoholkurven auf 0,01—0,025%, die zwischen der 2.—3. Stunde nach der Alkoholzufuhr die Ausgangsnüchternwerte wieder erreicht haben. Die Alkoholkurve im Blut nach 20 ccm reinen Alkohols bei der gleichen Versuchsperson erreicht ein Maximum von 0,08% und beträgt noch nach 4 Stunden 0,04% Blutalkohol, sie verhält sich also analog der in Abb. 1, Kurve II wiedergegebenen. Diesen Vorgang haben wir *ausnahmslos* in allen derartigen Versuchen beobachten können (s. auch Abb. 3). Wenn wir uns nach dem Sinn dieses Alkoholverhaltens fragen, so weisen schon die Versuche von BORNSTEIN und LOEWY [18] darauf hin, daß bei gleichzeitiger Saccharosezufuhr der Verlauf der Blutalkoholkurve *quantitativ* und *zeitlich* verkürzt ist. Auf den Parallelismus der Blutalkoholkurve und der Alkoholverbrennungskurve (Abb. 1, Kurve III, 3) haben wir bereits oben hingewiesen. Wenn man also die *sofort*

verbrennbare Lävulose bzw. ein Gemisch von Lävulose und Dextrose gleichzeitig mit dem *Alkohol* zuführt, so verbrennt der Alkohol sofort und in noch viel weitgehenderem Maße als sonst. Nun ist ja zweifelsohne die in das *Zentralnervensystem eindringende* und damit *narkotisch wirkende Alkoholmenge* eine Funktion des Alkoholgehaltes im Transportorgan Blut, worauf die Proportionalität der Blutalkoholkurven bei reiner Alkoholzufuhr (Abb. 1, Kurve I u. II) hinweist. Dies führt zur Schlußfolgerung, daß je mehr und schneller der zugeführte Alkohol verbrennt, um so geringer wird die narkotische Alkoholnebenwirkung sein müssen. Zieht man die *subjektiven Erscheinungen* der narkotischen Alkoholwirkung zur Beurteilung mit heran, wie wir das auf Grund der zahlreichen Selbstversuche tun können, so stellen wir fest, daß bei der *Alkoholzufuhr* in Form der *Energetika keinerlei Rauschwirkung* empfunden wird, die bei der gleichen Alkoholmenge in Wasser ganz deutlich feststellbar ist. Man kann also durch geeignete Zufuhrbedingungen die *narkotische Alkoholnebenwirkung* vollkommen vermeiden, d. h. die *Alkoholverwertung* ist genau so steuerbar, wie die der anderen Grundnährstoffe. Auf diese Weise ist es möglich, durch Wegsteuerung der narkotischen Alkoholnebenwirkung den Alkohol zu einem *reinen Brennstoff* zu erheben. Suchen wir nach einer Erklärung dieser Vorgänge, dann drängt sich der Vergleich mit der Fettverwertung, wie er besonders von GEELMUYDEN[19] beobachtet worden ist, auf. Dieser Autor stellte den Satz auf: „Die Fette verbrennen im Feuer der Kohlehydrate." Man könnte in Analogie sagen: „Der Alkohol verbrennt im Feuer der Kohlehydrate bzw. der Lävulose", denn wir denken hier in erster Linie an den Einfluß der *Sofortverbrennung* der *Lävulose* auf die Alkoholverbrennung.

Der Einfluß der Alkoholzufuhr auf die Zuckerverwertung.

Es ist eine wohlbekannte Tatsache, daß die Alkoholverbrennung im Organismus an erster Stelle steht, dabei wird die Verbrennung der anderen Grundnährstoffe zurückgedrängt. Hierdurch wir die Brennstoffeinsparung durch die Zufuhr mäßiger Alkoholmengen erklärbar. Eine besondere Bedeutung kommt der Alkoholverbrennung auf den Eiweißumsatz zu. NEUMANN[20] hat in sehr sorgfältigen Untersuchungen diese *eiweißsparende Alkoholwirkung* eingehend festgelegt. Eine praktische Bedeutung konnte diese Alkoholwirkung aber erst gewinnen, wenn es gelang, die unerwünschte narkotische Alkoholnebenwirkung ganz auszuschalten, wie wir dies im vorangehenden Abschnitt gezeigt haben. Diese nutzbare Alkoholwirkung hat neben ihrer rein energetischen Bedeutung — der Alkohol hat mit 7,13 Kal./g nächst dem Fett

[19] GEELMUYDEN: Ber. Physiol. **21**, 274 (1923); **230**, 51 (1931). — [20] NEUMANN: Dtsch. med. Wschr. **1917**, 901.

den höchsten physiologischen Nutzwert der Verbrennung — einen *gleich wichtigen Stoffwechselsteuerwert*. Diese Stoffwechselsteuerwirkung macht sich z. B. im Kohlehydratstoffwechsel sehr deutlich bemerkbar. Wir haben im Laufe unserer Untersuchungen gesehen[1–8, 13, 15], daß der Verlauf der Blutzuckerdifferenzkurven ein guter Indikator für die Zuckerverwertung ist. Hyperglykämien fallen mit dissimilatorischen *Verbrennungssteigerungen* zusammen, wohingegen *Hypoglykämien* von *entsprechenden assimilatorischen Hemmungen* der *Oxydationen* begleitet oder gefolgt werden. Die *gegenregulatorische Hypoglykämie* auf eine durch Zuckerzufuhr erzeugte Hyperglykämie ist ja eine schon lange bekannte Erscheinung und wird zurecht auf die durch die Blutzuckererhöhung erfolgende Insulinmehrsekretion zurückgeführt. Wir[7, 8] haben zeigen können, daß eine enge *Koppelung* zwischen der *assimilatorischen cholinergischen Vagusfunktion* und der *Insulinwirkung* besteht. Wir wollen nun einmal an Hand von Blutzuckerdifferenzen den Alkoholeinfluß auf die Zuckerverwertung betrachten. Im Selbstversuch haben wir eine Blutzuckerdifferenzkurve nach 60 g Dextrose in 200 ccm Flüssigkeit bestimmt, die nach einer ausgesprochenen Hyperglykämie von 50% eine geringgradige hypoglykämische Reaktion von etwa 10% aufweist. Wird nun bei derselben Versuchsperson 200 ccm E_1 (20 g Alkohol + 15 g Dextrose + 15 g Lävulose) zugeführt, so sehen wir eine Hyperglykämie von nur 15%, die von einer Hypoglykämie von 40% gefolgt ist. Bei einer anderen Versuchsperson beobachten wir ein durchaus ähnliches Verhalten der Zuckerverwertung nach Zufuhr von 200 ccm E_1 (s. auch Abb. 2).

Wir möchten hier bemerken, daß Alkohol- und Zuckerversuche nicht vor Ablauf des 4. Tages wiederholt werden sollten, zudem muß die Versuchsperson in der Zwischenzeit Alkoholgenuß wie auch sonstige Unregelmäßigkeiten in der Lebensweise vermeiden. Während des Versuchs, der morgens nüchtern beginnt, liegt die Versuchsperson ruhig auf einem Liegebett.

Zur weiteren Klärung haben wir an *einer* Versuchsperson den Einfluß äquivalenter Mengen von je 60 g Dextrose oder Lävulose in 200 ccm Aqua dest., 30 g Dextrose + 30 g Lävulose und schließlich 200 ccm E_1 (30 g Dextrose + 30 g Lävulose + 20 g Alkohol) auf den Blutzucker bzw. Blutalkohol untersucht. Wie aus den Kurven in Abb. 2 hervorgeht, ruft die Dextrose (Abb. 2, Kurve *BD*) die stärkste Hyperglykämie von 45% hervor, die von einer kompensatorischen hypoglykämischen Phase von 16,7% gefolgt ist. Die Lävulosehyperglykämie (Abb. 2, Kurve *BL*) beträgt 25%, das hypoglykämische Maximum nur 9,3%. Durch das Dextrose-Lävulosegemisch (Abb. 2, Kurve *BJ*) kommt es zu einer Hyperglykämie von 35%, ohne daß eine hypoglykämische Reaktion nachfolgt. Wirkt aber nun wie bei der Gabe von 200 ccm

E_1 der Alkohol mit, so ändert sich die Reaktionsweise grundlegend, auf eine kurze dissimilatorische Hyperglykämie von nur 10% erfolgt eine *langdauernde hypoglykämische Reaktion* von 24% (Abb. 2, Kurve *BE*). Die zugehörige Alkoholkurve im Blut (Abb. 2, Kurve *AE*) zeigt nur eine geringgradige Erhöhung, wie wir sie oben bereits beschrieben haben. Mit aller Deutlichkeit geht aus den Energetikumversuchen

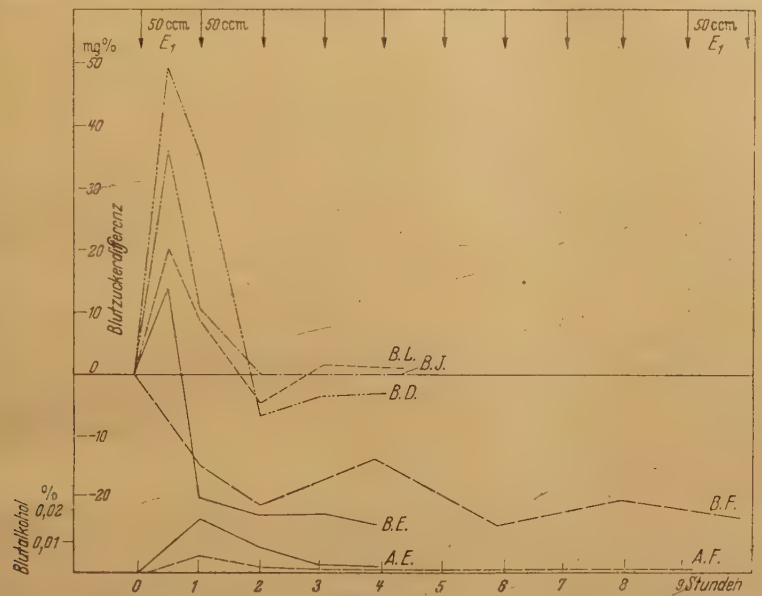


Abb. 2. Beziehungen von Zusammensetzung und Art der Zufuhr von Monosacchariden und E_1. Sämtliche Versuche an einer Versuchsperson. Blutzuckerdifferenzkurven: ——— *BE* 200 ccm E_1; —·—·— *BD* 60 g Dextrose in 200 ccm Aqua dest.; ·-·-·-·- *BL* 60 g Lävulose in 200 ccm Aqua dest.; —·—·— *BJ* 30 g Lävulose + 30 g Dextrose in 200 ccm Aqua dest.; ——— *BF* 50 ccm E_1 stündlich über 10 Stunden. Blutalkohol: ——— *AE* zu *BE*.; ——— *AF* zu *BF*.

hervor, daß der *Alkohol* eine *Sparwirkung* im Sinne einer *Kohlehydratassimilation* auslöst. Die zur Kontrolle angestellten Versuche mit Dextrose, Lävulose und einem Gemisch beider zeigen eine viel stärkere Betonung der dissimilatorischen Stoffwechselphase. Die angewandte Einzelmenge von 200 ccm E_1 hat hauptsächlich experimentelle Bedeutung. Wenn man dazu übergeht, die Energetikumzufuhr in kleinere Dosen aufzuspalten, wie dies in dem folgenden Versuch (Abb. 2, Kurve *BF*) geschehen ist, so sehen wir, daß bei stündlicher Zufuhr von 50 ccm E_1 über 10 Stunden sich eine langdauernde assimilatorische Hypoglykämie entwickelt. Die dissimilatorische Hyperglykämie fehlt vollkommen. Aus der sich unter diesen Umständen ausbildenden Bradykardie von 20% und mehr, darf man auf eine gleichsinnige allgemeine Vagotonie schließen. Desgleichen entwickelt sich unter diesen Umständen

eine starke Müdigkeit mit einem entsprechenden erheblichen Schlafbedürfnis. Die zugehörige Blutalkoholkurve (Abb. 2, Kurve *AF*) zeigt, daß bei dieser *Art der Alkoholzufuhr* trotz der großen Gesamtmenge von 50 g Alkohol die *Blutnüchternwerte überhaupt nicht überschritten werden.* Es ist aus diesen Versuchen zu ersehen, daß man es in der Hand hat, durch die Wahl der Einzeldosen wie auch die Art ihrer zeitlichen Verteilung durch dieses Gemisch von Grundnährstoffen jede gewünschte Steuerwirkung auszulösen. Daneben steht als nicht zu übersehender Faktor der hohe Brennwert der Energetika, die auch bei mangelhaftem oder fehlendem Appetit zugeführt werden können. Wir wollen hier nur kurz darauf hinweisen, daß im Notfalle für kurze Zeit eine kalorisch hinreichende intravenöse Ernährung durch entsprechend zusammengesetzte Energetika möglich ist und von uns auch durchgeführt wurde. Wir haben es in Selbstversuchen unternommen, über einige Tage allein von E_1 zu leben. So haben wir z. B. an fünf aufeinanderfolgenden Tagen mit 1—1,5 Liter E_1 mit einem kalorischen Äquivalent von 1942 bis 2913 Kalorien mit erheblicher geistiger Anspannung im Laboratorium gearbeitet. Eine subjektive und objektive Alkoholwirkung konnte dabei nicht festgestellt werden. Wir fühlten uns dabei im höchsten Grade leistungsfähig. Auffällig war nur eine frühzeitige Müdigkeit am Abend und ein sehr tiefer und erholsamer Nachtschlaf. In anderen Selbstversuchen haben wir im Januar 1941 bei einer Außentemperatur von — 25—28° C einen Marsch von insgesamt 10 Stunden Dauer auf zum Teil ungebahnten schneeverwehten Wegen über 31,5 km unternommen. Wir traten den Weg nüchtern an und gingen 5 Stunden, bis wir die Grenze der Erschöpfung erreichten. Im Harn fand sich eine stark stark positive Azetonreaktion (Hungerazeton). Von da ab führten wir eine einmalige Dose von 200 ccm E_1 und dann in Abständen je Stunde 360 ccm E_1, d. h. also insgesamt 2 Liter E_1 mit 3884 Kalorien zu. Schon im Laufe der ersten halben Stunde nahm der Erschöpfungszustand zusehends ab. Am Ende der ersten Stunde fühlten wir uns vollkommen ermüdungsfrei und leistungsfähig. Eine Harnprobe $1^1/_2$ Stunden nach Beginn der Energetikumzufuhr war frei von Azeton. Die zweite Hälfte der Versuchszeit ließ die erhebliche körperliche Anstrengung leicht überwinden. Ebenso wurde die erhebliche Kälte trotz der mit Absicht verhältnismäßig leicht gewählten Kleidung nicht übermäßig empfunden. Eine *subjektive* Wirkung im berauschenden Sinne wurde trotz der großen Gesamtzufuhr von 200 ccm Alkohol in Form des E_1 nicht festgestellt. Bemerkenswert war der tiefe Nachtschlaf im Anschluß an den Selbstversuch und das Gefühl völliger Erholung am folgenden Morgen. Obwohl ich untrainiert war, wurde ein bewußt herbeigeführter Erschöpfungszustand und anschließend die weitere erhebliche körperliche Leistung unter dem Einfluß der Energetikum-

zufuhr glatt überwunden. Aus diesen Selbstversuchen ergibt sich einmal, daß es möglich ist, mit E_1 über mehrere Tage eine kalorisch hinreichende Noternährung bei voller geistiger und körperlicher Leistungsfähigkeit zu unterhalten, zum anderen läßt sich ein körperlicher *Erschöpfungszustand* durch Energetikumzufuhr sehr schnell überwinden, und es können auf diese Weise große energetische Leistungen vollbracht werden. Narkotische Alkoholnebenwirkungen konnten bei diesen Versuchen nicht beobachtet werden. Wir haben in zahlreichen Selbstversuchen regelmäßig die gleichen Beobachtungen machen können.

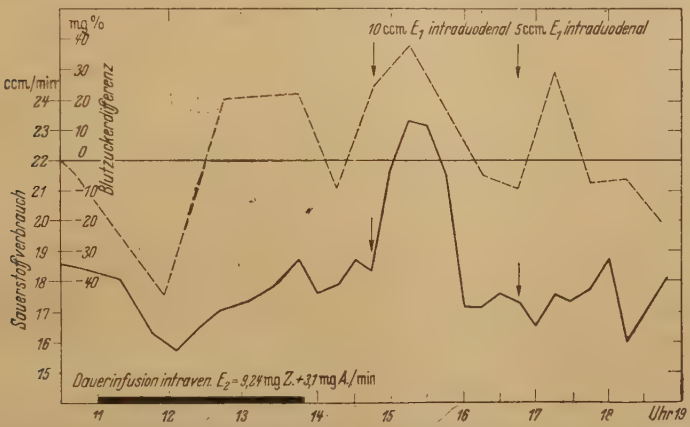


Abb. 3. Stoffwechselwirkung von E_1 am Tier. Versuch vom 26. 11. 41. Katze. 3000 g Narkose. 0,08 g/kg Chloralose; ——— Sauerstoffverbrauch; ——— Blutzuckerdifferenz.

Die enge Koppelung der Insulin-Vaguswirkung wird aus dem folgenden Versuch an der Katze (Abb. 3) ersichtlich, wo durch eine intravenöse Energetikumdauerinfusion von je 4,12 mg Dextrose, Lävulose und 3,1 mg Alkohol in 0,031 ccm je Minute 0,9% NaCl-Lösung zuerst eine ausgesprochene Assimilationsphase aufgelöst wird. Die vagotone (cholinergische) Sauerstoffverbrauchseinsparung beträgt 16%, die begleitende insuläre Hypoglykämie erreicht mit 38,5% ihr Maximum. In der zweiten Hälfte der Dauerinfusionsperiode kommt es zur Ausbildung einer dissimilatorischen Stoffwechselwirkung, wobei sich eine Hyperglykämie von maximal 20% entwickelt, die von einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauches auf den Ausgangswert begleitet ist. Nach einer Zwischenperiode von 1 Stunde 15 Min. werden 10 ccm E_1 intraduodenal gegeben. Es entwickelt sich am Stoffwechsel eine einstündige Dissimilationsphase starken Ausmaßes, wobei das Maximum des Sauerstoffverbrauches um 25% über dem Ausgangswert liegt. Die nächste Stunde zeigt eine Umkehr der Stoffwechsellage zur Norm auf, an deren Ende 5 ccm E_1 intraduodenal mit einer wesentlich geringeren dissimilatorischen Wirkung auf Blutzucker und O_2-Verbrauch verabreicht

werden. Wiederum nach Ablauf einer Stunde kommt es zur gegenregulatorischen Assimilation. Wir haben dieses Verhalten in 10 weiteren Versuchen durchaus regelmäßig beobachten können, so daß der Schluß der ausgesprochenen Steuerwirkung der Energetika berechtigt ist. Wenn man die Substratsteuerung dieser Brennstoffgemische mit denen der Monosaccharide allein [8] vergleicht, so darf man sogar sagen, daß sich durch die Energetikumwirkung dieser Einfluß in jeder gewünschten Richtung leichter erzielen läßt. Eine nicht unwesentliche Rolle spielt unter diesen Umständen die *resorptionsbeschleunigende Wirkung* des *Alkohols*. Durch die Einbeziehung von Aminosäuren mit ihrer hohen spezifisch-dynamischen Wirkung haben wir den Einfluß der Energetika auf den Stoffwechsel erweitern können, wie unten noch gezeigt werden soll.

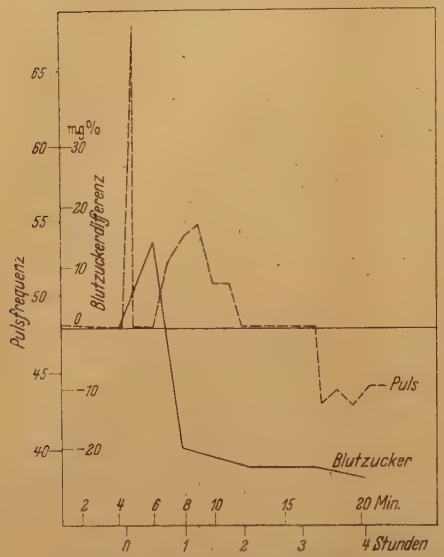


Abb. 4. Energetikumwirkung am Menschen. ——— Blutzuckerdifferenzkurve nach 100 ccm E_1. Zeit in Stunden; — · — Pulsfrequenzkurve nach 100 ccm E_1, Zeit in Minuten.

Endlich soll als weiteres Beispiel eine Pulsfrequenzkurve (Abb. 4) wie sie unser Mitarbeiter BÄNDER in Selbstversuchen beobachtet hat, nach 100 ccm E_1 wiedergegeben werden. Sie zeigt die kurze Initialzacke der Pulsfrequenzerhöhung, wie wir sie als Folge der Magenfüllung und der primär resorptiven Wirkung durch Blutmengenerhöhung usw. betrachten. Die zweite *sympathikotone Erhöhung* der *Pulsfrequenz* fängt in der 7. Min. an und wird zum größten Teil durch O_2-Mehr*verbrauch* infolge der *Lävulose-Alkoholverbrennung* verursacht sein. In den Versuchen von BORNSTEIN [11] finden wir schon 6 Min. nach der peroralen Zufuhr von 100 g Lävulose (Versuch 26 und 27) eine O_2-Verbrauchssteigerung von 9,5 bzw. 9,6% und bei HOLM [14] (Versuch 1) auf 80 g Lävulose von der 8. Min. an eine Umsatzerhöhung von 21,7%, von der 20.—30. Min. an kann bereits der Umsatz die Ausgangssauerstoffverbrauchswerte erreicht haben. Die Pulsfrequenz erreicht in der 14. Min. den Ausgangswert, um diesen nach der 17. Min. im Sinne einer *vagotonen Bradykardie* zu unterschreiten. Eine zugehörige *Blutzuckerdifferenzkurve* nach 100 ccm E_1 zeigt gleichfalls die Hyperglykämie als Zeichen einer dissimilatorischen Sympathikotonie mit der nachfolgenden vago-insulären Hyperglykämie als Assimilations-

phase. Es soll betont werden, daß die Zeitabszissen bei der Pulsfrequenz Minuten, bei der Blutzuckerdifferenz Stunden betragen. Es zeigt uns dies Beispiel, wie die Funktion eines *Organsystems* durch *Energetikumzufuhr* im Sinne einer *sympathikotonen* oder *vagotonen Reaktion* beeinflußt werden kann, die im vorliegenden Falle die *Kreislaufgröße* der *Pulsfrequenz*. Es ist dies ein Weg, auf dem man die *Substratsteuerung* des *Stoffwechsels zur Beeinflussung vegetativ-hormonal gesteuerter Organfunktionen* anwenden kann (s. Schema III).

Besprechung.

Wenn wir die Ergebnisse der bisher angeführten Beobachtungen überblicken, so ergibt sich, daß sich die physiologische Wertigkeit eines Grundnährstoffes, zu denen wir die verschiedenen Spaltprodukte der Kohlehydrate, des Eiweißes, Fettes und jetzt unter bestimmten Umständen auch noch den Äthylalkohol zählen, bzw. die ihrer natürlichen Gemische aus der Nahrung oder der künstlich zugeführten in Form der *Energetika* aus mehreren Faktoren ergibt. Es sind dies der *kalorische Nutzwert* der Verbrennung im Organismus, die *Art* ihrer Verwertung, die *Zeitfaktoren* ihrer Verwertung und ihr Stoffwechselsteuerwert bzw. *Substratsteuerwert*. Der kalorische Nutzwert ist nahezu der gleiche wie der physikalische Brennwert und beträgt je Gramm beim Kohlehydrat 4,1 Kalorien, Fett 9,4 Kalorien und Alkohol 7,13 Kalorien; das Eiweiß mit 4,1 Kal./g weist einen 12% niedrigeren Nutzwert auf.

Die *Verwertungsart* hängt von der vorwiegenden Aufgabe der Nahrungsstoffe ab. Der Hauptbaustoff ist das Eiweiß, ihm folgt das Fett bzw. die Lipoide und in geringerem Grade das Kohlehydrat. Die Reihenfolge der energetischen Wirksamkeit, d. h. ihre Rolle als Brennstoff ergibt eine Umkehr insofern, als hier die Folge Alkohol, Kohlehydrat, Fett und Eiweiß gilt. Als Ausdruck ihrer Bedeutung als *Energiereserven* darf wohl die Deponierungsfähigkeit angesehen werden, die sehr wohl von der *relativ immobilen Baustoffanlagerung* unterschieden werden muß, sie folgt der Reihe Fett, Kohlehydrat, Eiweiß. Im Organismus eines gut genährten Mannes von 70 kg finden sich ungefähr an Reserven:

500 g Vorratseiweiß
1400 g Glykogen
6000 g Fett.

Die *Zeitfaktoren* ihrer *energetischen Verwertung*, d. h. die Schnelligkeit ihrer Verbrennung und Mobilisierung aus den Speichern zeigte eine ausgesprochene Bevorzugung des Alkohols und der Kohlehydrate, wobei noch ein großer Unterschied bei den letzteren auch unabhängig bzw. nach Ausschaltung der Spaltungsvorgänge durch Zufuhr der Monosaccharide Lävulose und Dextrose feststellbar ist. *Sofortverbrennung*

finden wir beim Alkohol und der Lävulose, während die von außen zugeführte Dextrose erst nach 1 Stunde zu verbrennen anfängt. Eiweiß und Fett werden in der Hauptsache erst nach ihrer Umwandlung in Kohlehydrate energetisch wirksam, ihre Verbrennung erfolgt erst im Laufe von etwa 2—6 Stunden nach der Zufuhr.

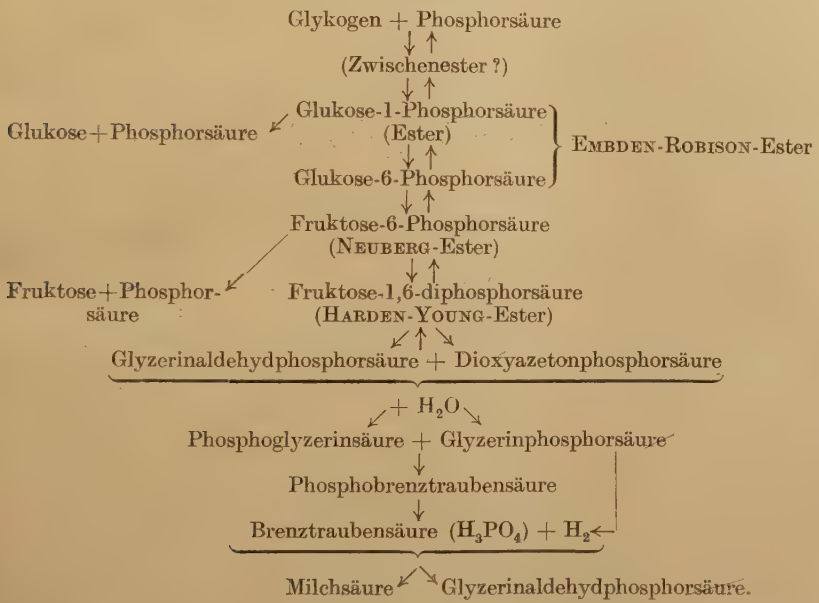
Der *Stoffwechselsteuerwert*, wie er sich zu einem Teil in der *spezifisch dynamischen Wirkung* nach unserer [8] Ansicht ausdrückt und von uns als *Substratsteuerung bezeichnet wird*, ist quantitativ der Intensität nach durch die Ordnung Eiweiß, Kohlehydrat, Fett gegeben. Die Richtung der Steuerung, d. h. ob ein dissimilatorischer oder ein assimilatorischer Einfluß ausgeübt wird, d. h. also der *Qualität* nach ist eine zeitliche Funktion der Zufuhr und Resorption. Nun liegt aber eine weitere Steuerungsfunktion der Nährstoffe in der *gegenseitigen Beeinflussung* ihrer Verwertung vor. So wirkt der *Alkohol*, der selbst keine spezifisch-dynamische Wirkung hat, *einschränkend* auf den *Eiweißumsatz*. Wir konnten eine vermehrte Kohlehydratassimilation unter der Alkoholverbrennung feststellen. Durch erhöhte Kohlehydratzufuhr wird gleichfalls der Eiweißumsatz bzw. die Eiweißverbrennung vermindert. Die Fettverbrennung wird ebenfalls durch Kohlehydrate eingeschränkt, ja bei großer Kohlehydratzufuhr kommt es zur Fettbildung aus Kohlehydraten, d. h. der als Mast bezeichneten Fettdeponierung. Die *vermehrte Alkoholverbrennung* durch eine gleichzeitige Sofortverbrennung der Lävulose, wie wir sie erstmalig festgestellt haben, gehört gleichfalls in dieses Gebiet der „*korrelativen Steuerung*" des Stoffwechsels, wie wir diese gegenseitigen Beeinflussungen bezeichnen möchten. Es ist einleuchtend, daß alle diese Vorgänge voneinander abhängig sind und nur insgesamt betrachtet werden können (s. auch Schema III).

Schließlich wollen wir noch auf die Bedeutung des Äthylalkohols im Stoffwechsel eingehen, da ihm nach unserer Auffassung eine nicht unwesentliche Bedeutung zukommt. Der Äthylalkohol (in unserem Zusammenhang auch kurz als Alkohol bezeichnet) kommt als normales Stoffwechselprodukt im Warmblüterorganismus vor. Zudem ist der Organismus in der Lage, Alkohol zu verbrennen, und zwar erfolgt dies sogar an erster Stelle. Andererseits steht die anaerobe Alkoholbildung aus Zucker durch Hefe, die allgemein als Gärungsvorgang bekannt ist, als Hauptprozeß neben der aeroben Zuckerverwertung der Hefe, die einen ähnlichen Verlauf nimmt, wie die Zuckerverbrennung im tierischen Organismus. Die Hefen sind auch durch Zuckerpolymerisation zur Glykogenbildung fähig. Die Alkoholverbrennung erfolgt über die Bildung von *Azetaldehyd* und *Essigsäure*. Es scheint also die Stellung des Äthylalkohols als eines Intermediärprodukts im Kohlehydratstoffwechsel möglich zu sein. Der *Azetaldehyd* tritt aber auch als intermediäres Produkt des oxydativen Kohlehydratabbaues auf. Nun kann durch Dismutation, die als CANIZZAROsche *Umlagerung* bekannt ist, auf fermentativem Wege aus 2 Molekülen Azetaldehyd je 1 Molekül Äthylalkohol und Essigsäure wie folgt entstehen.

$$\left.\begin{matrix} CH_3 \cdot C{<}^{O}_{H} \\ \text{Acetaldehyd} \\ CH_3 \cdot C{<}^{O}_{H} \end{matrix}\right\} + \left\{\begin{matrix} H_2 & CH_3 \cdot CH_2OH \\ & \text{Äthylalkohol} \\ O & CH_3 \cdot COOH \quad \text{Essigsäure} \end{matrix}\right. \tag{1}$$

So kann man sich im Organismus die Äthylalkoholentstehung aus Kohlehydrat vorstellen. Eine Betrachtung des Kohlehydratabbaues bzw. Aufbaues Glykogen-Milchsäure weist nach der EMBDENschen Vorstellung auf das Auftreten der Fruktose-6-Phosphorsäure (NEUBERG-Ester) aus der Glukose-6-Phosphorsäure (EMBDEN-Ester) hin. Das nebenstehende Schema des Glykogenabbaues zu Milchsäure von LENHARTZ [21] gibt die Verhältnisse wieder.

Schema I.



EMBDEN und besonders BORNSTEIN [11] haben auf die Bedeutung der *Lävulose* (Fruktose) im Kohlehydrastoffwechsel hingewiesen. Wenn wir die EMBDENsche Vorstellung in der Darstellung von LENHARTZ zugrunde legen (Schema I), dann würde die schnellere Verbrennung der Lävulose aus dem Wegfall der Glukosevorstufen verständlich werden. Es kommt noch hinzu, daß nach unseren Beobachtungen [7] zugeführter Traubenzucker erst über die Polymerisation zu Glykogen zu verbrennen vermag, was bei der Lävulose (Fruktose) nicht ohne weiteres der Fall ist. Andererseits tritt die *Brenztraubensäure* als wichtiges Intermediärprodukt auf, bei deren oxydativem Abbau *Azetaldehyd* und *Essigsäure* entstehen. Nun kann durch Kondensation aus 2 Molekülen Azeatldehyd *Aldol* gebildet werden,

$$CH_3 \cdot C{<}^{O}_{H} + CH_3 \cdot C{<}^{O}_{H} = \underset{\text{Aldol}}{CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot {<}^{O}_{H}}. \tag{2}$$

[21] LENHARTZ: Chemische Physiologie, Berlin: Springer 1943.

das seinerseits auf folgende Art in Azeton übergehen kann:

$$\underset{\text{Aldol}}{CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot C\!<\!\begin{matrix}O\\H\end{matrix}} \rightarrow \underset{\beta\text{-Oxybuttersäure}}{CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot COOH}$$

$$\underset{\text{Azetessigsäure}}{CH_3 \cdot CO \cdot CH_2 \cdot COOH} \rightarrow \underset{\text{Azeton}}{\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\!>\!C\,O} + CO_2. \qquad (3)$$

Schließlich sei noch die Möglichkeit der Essigsäurebildung durch hydrolytische Aufspaltung der Azetessigsäure erwähnt.

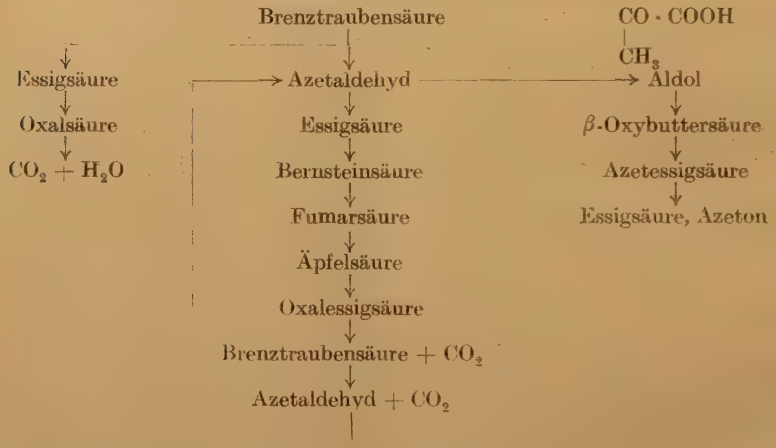
$$\underset{\text{Azetessigsäure}}{CH_3 \cdot CO \cdot CH_2COOH} + H_2O = 2\,\underset{\text{Essigsäure}}{CH_3 \cdot COOH}. \qquad (4)$$

Durch Dehydrierung zweier Moleküle *Essigsäure* entsteht *Bernsteinsäure*:

$$\left.\begin{matrix}CH_3 \cdot COOH\\ \text{Essigsäure}\\ CH_3 \cdot COOH\end{matrix}\right\} - H_2 \quad \begin{matrix}CH_2COOH\\ |\\ CH_2COOH\end{matrix} \quad \text{Bernsteinsäure.} \qquad (5)$$

Bernsteinsäure ist als regelmäßiger Bestandteil der Muskulatur nachgewiesen. Wir geben das Schema II des oxydativen Abbaues der *Brenztraubensäure* von LENHARTZ [21] wieder:

Schema II. *Oxydativer Abbau der Brenztraubensäure.*



Hiernach ergibt sich aus der Brenztraubensäure ein Weg der Azetaldehydbildung, aus dem nach Gleichung (1) Äthylalkohol und Essigsäure entstehen kann. Weit wichtiger noch ist aber für uns der Weg der *Azetaldehydbildung* durch die *Alkoholverbrennung*:

$$\underset{\text{Äthylalkohol}}{CH_3 \cdot CH_2 \cdot OH} + O = \underset{\text{Azetaldehyd}}{CH_3 \cdot C\!<\!\begin{matrix}O\\H\end{matrix}} + H_2O \qquad (6)$$

$$\underset{\text{Azetaldehyd}}{CH_3 \cdot C\!<\!\begin{matrix}O\\H\end{matrix}} + O = \underset{\text{Essigsäure}}{CH_3 \cdot COOH} \qquad (7)$$

Die *Weiterverbrennung* der Essigsäure wird aus Schema II ersichtlich. Die Alkoholbildung nach (2) und ihre weitere Oxydation über β-Oxybuttersäure-

Azetessigsäure zum Azeton nach (3) ist eine im Organismus unter den pathologischen Umständen des Diabetes mellitus stark in Erscheinung tretende Reaktion. Beim Diabetes stammt die β-Oxybuttersäure dem überstürzten Fettabbau zu Kohlehydrat. Wie aus Azetessigsäure Essigsäure entstehen kann, zeigt (4) und schließlich sehen wir in (5) einen Weg der weiteren Essigsäureverbrennung.

Wie früher schon von Bornstein und Loewy [18] gezeigt wurde, wird der Alkohol zuerst verbrannt. Wir konnten zeigen, daß durch die gemeinsame Zufuhr von *Lävulose* (Fruktose), *Dextrose* (Glukose) und *Alkohol* die Alkoholverbrennung noch beschleunigt wird, wobei es über die korrelative Steuerung des Alkohols zu einer *erhöhten Zuckerspeicherung* in Form von Glykogen kommt. Nach unseren Beobachtungen muß der Reaktionsablauf *Alkohol-Azetaldehyd-Essigsäure* durch die Sofortverbrennung der Lävulose beschleunigt werden. Wie wir sehen (Schema I und II), entstehen aber *Azetaldehyd* und *Essigsäure* auch aus der beim oxydativen Zuckerabbau auftretenden Brenztraubensäure. Diese Vorgänge sind reversibel, und sie können in der Umkehrung zum *Zucker-* bzw. *Glykogenaufbau* führen. Man könnte sich denken, daß eine durch Zuckerverbrennung beliebig zu steigernde Azetaldehyd-Essigsäureverbrennung in Gang gesetzt und unterhalten wird. In diesen Reaktionsablauf tritt nun der Verbrennungsvorgang des Äthylalkohols ein und verdrängt bis zu einem gewissen Grade die Zuckerverbrennung. Hieraus würde sich sowohl die schnellere und vollkommenere Verbrennbarkeit des Alkohols wie auch die hierdurch bedingte assimilatorische Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel erklären lassen. Aus den von Bornstein und Loewy [18] beobachteten RQ mit 0,750—0,800 ergibt sich zwar ein sehr starker Anteil des Alkohols an der Verbrennung, doch wird der Wert eines reinen Alkohol-RQ von 0,668 nie ganz erreicht. Alkohol verbrennt außerdem nicht in beliebigen Mengen, sondern hat beim Menschen für kurze Zeiten und seine alleinige Zufuhr eine verbrennbare Höchstmenge von 10 g je Stunde. Die lange Dauer der Blutalkoholkurven bei reiner Alkoholzufuhr (Abb. 1, Kurve I und II) weist auf die starke Begrenzung seiner Verbrennbarkeit hin. Die narkotische Alkoholnebenwirkung hat im Verein mit diesen Tatsachen dazu geführt, daß trotz seines hohen kalorischen Äquivalents und seiner schnellen Verbrennung der Alkohol als Nahrungsmittel abgelehnt wurde. Wir möchten der Vermutung Ausdruck geben, daß der Alkohol selbst die zu seiner Verbrennung notwendigen Vorgänge nur in geringem Grade in Gang zubringen und zu unterhalten vermag. Erst durch die *Initialzündung* der Kohlehydratverbrennung wird die Alkoholverbrennung möglich und kann auf gleiche Weise unterhalten und bzw. gesteigert werden, wie wir dies in unseren Versuchen in der Tat zu beobachten Gelegenheit hatten. Wir haben oben diesen Vorgang durch eine analoge Version Geelmuydens von der Fettverbrennung her so zu charakterisieren versucht, daß „der Alkohol im Feuer der Kohlehydrate verbrennt". Hierbei sind wir uns des hypothetischen Charakters unserer Überlegungen über die Rolle des Alkohols als Intermediärprodukt im Stoffwechsel durchaus bewußt. Hinzu kommt die Tatsache, daß der Alkohol als eines der ältesten und weitest verbreiteten Genußmittels durchaus ernst zu nehmende Gefährdung für viele Menschen in sich bringt. Auch die ernsthafte wissenschaftliche Betrachtung seines Verhaltens im Stoffwechsel bot keinen Schutz, daß sie nicht zu falschen Auslegungen mißbraucht wurde.

Die von uns beobachteten und beschriebenen *Tatsachen* der *Alkoholverwertung* in Form der Energetika am gesunden Menschen und im Tierversuch sind so umfangreich und weitgehend gesichert, daß wir sie für zutreffend halten. In Form der „*Energetika*" verliert der Alkohol

seine Eigenschaft als narkotisches Genußmittel so vollkommen, daß mißbräuchlichen Deutungen der Boden entzogen ist. Zudem ergibt sich dadurch erst die Möglichkeit, seine therapeutische Anwendung ohne Gefährdung zu erproben und ihn in Form der „*Energetika*" damit in die Reihe der *wirklichen Heilmittel* einzuordnen. Die Zahl der Pharmaka, die zugleich einerseits gut wirksam und andererseits ungiftig bzw. vollkommen unschädlich sind, ist an sich sehr klein. Es muß unter anderem das Ziel unserer wissenschaftlichen Bemühungen sein, neben der guten Wirksamkeit eines Pharmakons es, soweit es angeht, auch seiner giftigen Neben- bzw. Nachwirkungen zu entkleiden. Wir glauben im Vorstehenden dies Ziel für den Alkohol *weitgehend* erreicht zu haben. Im Folgenden wollen wir nun zu zeigen versuchen, welche therapeutischen Wirkungen mit den *Energetika* angestrebt werden können.

Die Anwendung der Energetika am kranken Menschen.

Nach unseren früheren [1–8] und jetzigen Beobachtungen schien es gerechtfertigt, die Prinzipien der „Substratsteuerung" und der „korrelativen Steuerung" des Stoffwechsels in den Dienst der Therapie von Stoffwechselkrankheiten und Erkrankungen mit starker Beteiligung des Stoffwechsels zu stellen. Dies wurde uns durch das große Verständnis und Entgegenkommen von Professor Dr. KLAPP an der *Marburger Universitätsklinik für Chirurgie* möglich gemacht. Wir haben uns dabei ausschließlich verschieden zusammengesetzter Energetika bedient. Neben den Puls- und Temperaturkurven wurde zeitweilig der Blutdruck registriert. Als wesentlichste Erscheinung der Stoffwechselbilanz wurde die *Gewichtskurve* sorgfältig aufgestellt. Nicht zuletzt wurde das subjektive und objektive Befinden der Patienten zur Beurteilung herangezogen.

Auf die Messung des respiratorischen Stoffwechsels am Patienten haben wir aus bereits obenerwähnten Gründen verzichtet. Wie BORNSTEIN [13] in sehr ausgedehnten Untersuchungen festgestellt hat, haben z. B. *Basedowkranke* reine Erregungsumsatzsteigerungen um 40% über den BENEDICT-Werten. Die BENEDICTschen Zahlen sind nach dem gleichen Autor obere Grenzwerte. Im BORNSTEINschen Institut wurden deshalb nur Selbstversuche an langjährig geübten Institutsmitgliedern durchgeführt, die alle mindestens 10% unter den BENEDICTschen Standardzahlen lagen. Vier von den acht geübten Versuchspersonen hatten Grundumsatzwerte, die zwischen 10—22% unterhalb der Bezugswerte lagen. Der Wert von —22% unter dem BENEDICTschen Grundumsatzsollwert betrifft mich selbst und würde die Diagnose Myxödem bzw. Hypothyreose rechtfertigen, zu der aber alle sonstigen Anzeichen fehlen. Da dieser Umsatz 23 Jahre unverändert besteht, kann es sich nicht um eine temporäre Erscheinung handeln. Mit BORNSTEIN glauben wir vielmehr, daß für wissenschaftliche Einzeluntersuchungen nur geübte Versuchspersonen, deren Grundumsatz genau bekannt ist, oder gut dressierte Versuchshunde herangezogen werden sollten. Die Anwendung von Narkotika oder Schlafmitteln hat wegen ihrer Beeinflussung der vegetativ-

hormonalen Stoffwechselsteuerung ihre Grenzen. Die Chloralose als fast reines Großhirnrindennarkotikum gestattet brauchbare Stoffwechseluntersuchungen an der Katze.

Morbus Basedow.

Die schwerste Störung des Stoffwechsels im Sinne einer Übersteuerung stellt zweifelsohne die Basedowsche Krankheit dar. In ihren schweren und schwersten Formen versagen oft alle therapeutischen Bemühungen. Fr. v. Müller[22] hat die *Umsatzerhöhung* des Stoffwechsels als das entscheidende Symptom dieser Erkrankung festgestellt und erkannt, daß alle Teile des Stoffwechsels daran beteiligt sind. Er wurde zuerst durch die enorme Gewichtsabnahme bei sehr erheblicher Nahrungsaufnahme bei schweren Basedowkranken auf diese Vorgänge hingelenkt. Es besteht ein erhöhter Eiweißumsatz, der wohl sehr wesentlich als eine Folge der außerordentlichen Verbrennungssteigerungen, d. h. einer gesteigerten Kohlehydrat- und Fettverbrennung angesehen werden muß. Magnus-Levy[23] hat in seinen klassischen Stoffwechselversuchen die Beziehung der Verbrennungssteigerung zur natürlichen Schilddrüsenüberfunktion beim Morbus Basedow erklärt, sowie eine gleichartige Stoffwechselwirkung der durch Schilddrüsenhormonzufuhr erzeugten künstlichen Hyperthyreose festgestellt. Die Herabsetzung des Grundumsatzes bei der Schilddrüsenunterfunktion beim Mxyödem wurde vom gleichen Antor aufgefunden. Die Symptome der Tachykardie, des Exophthalmus, das Glanzauge, die Mydriasis u. a. feststellbaren Erscheinungen werden beim *Basedow* als Zeichen einer gesteigerten Sympathikotonie betrachtet, zu denen nach unseren Beobachtungen[5, 7, 8, 13] auch die *sympathikotone dissimilatorische Stoffwechselsteigerung* gezählt werden muß. Gleichfalls gehört die bei Basedow beobachtete Erregbarkeitssteigerung am zentralen und peripheren Nervensystem ins Bereich der sympathikotonen, d. h. *adrenergischen Einflüsse*, die z. B. hieraus resultierenden Schlafstörungen sind symptomatisch außerordentlich wichtig.

Die aus der gesteigerten Schilddrüsenfunktion resultierenden *Sympathikotonie* geht von der gefühlsmäßigen seelischen und körperlichen Steigerung der Leistungsfähigkeit des Wachzustandes bis zum pathologischen Erregungszustand. Während die *antagonistische Vagotonie* und die hierdurch ausgelösten assimilatorischen Funktionen durch Ruhe- und Schlafbedürfnis charakterisiert sind, die im extremen Falle sich als überstarke Müdigkeit bis zum Abgeschlagensein kundtun können. Der Antagonismus der beiden Steuerungssysteme[8] ist nach unseren Beobachtungen kein gleichförmiger Reaktionsvorgang, sondern es steht bei der *Sympathikotonie* das *regulatorische* Moment der *funktionellen Anpassung* und bei der *Vagotonie* eine gegenregulatorische *Kompensation* des *funktionellen Ausgleichs* im Vordergrund. Die vegetativ-hormonale Steuerung an sich verhindert, daß ein physiologischer Steuerungsvorgang fixiert und damit

[22] Müller, Fr. v.: Dtsch. Arch. klin. Med. **51**, 335 (1892/93). — [23] Magnus-Levy: Z. klin. Med. **33**, 268 (1897); **52**, 201 (1904).

der gegenregulatorische Ausgleichsprozeß verhindert wird. Diese *Steuerungsbehinderung* durch *Fixation* stellt einen pathologischen Zustand dar, d. h. sie imponiert uns als *Krankheit*.

Auf Grund unserer Analyse der Stoffwechselsteuerung[1, 8, 13] betrachten wir die *fixierte Sympathikotonie* als das *Kardinalsymptom* beim *Morbus Basedow*, aus dem alle Krankheitserscheinungen erklärbar werden. Die übergeordnete Stellung des Schilddrüsenhormons löst die Sympathikotonie aus und verhindert den Ausgleich durch die gegenregulatorische Vagotonie.

Die *Latenz* der stoffwechselsteigernden Wirkung des Schilddrüsenhormons wird nach unserer Auffassung so erklärbar, daß erst nach der Entwicklung des erhöhten Sympathikotonus sein dissimilatorischer Einfluß auf den Stoffwechsel zur Geltung kommt, was natürlich eine gewisse Zeit erfordert.

Der tiefere Grund der gesteigerten Schilddrüsenfunktion beim Morbus Basedow und seinen Vorstufen der Hyperthyreose besteht wiederum in einer Steuerungsstörung der Schilddrüsenhormonproduktion. Man weiß heute, daß erhebliche psychische Traumen einen Basedow auslösen können, so daß man hier an die Relation sympathisches, d. h. adrenergisches Nervensystem und Erregung denken muß. Neben der Erregungsmydriasis und zahlreichen anderen somatischen sympathikotonen Relationen sei hier vor allen Dingen als Stoffwechselsymptom die *Erregungshyperglykämie* erwähnt. Bei allen diesen Vorgängen spielt das thyreotrope Hormon des Hypophysenvorderlappens eine nicht unwichtige Rolle. Die übergeordnete Stellung der Hypophyse im regulativen Hormonhaushalt und ihre enge anatomische wie funktionelle Korrelation zum Zentralnervensystem legen diesen Gedanken nahe. Andererseits ist der Jodgehalt des Schilddrüsenhormons, als dessen Wirkungsträger das *Thyroxin* angesehen werden muß, von grundlegender Bedeutung insofern, als normalerweise nur der für eine normale Schilddrüsenhormonproduktion notwendige Jodanteil der Nahrung zum Thyroxin aufgebaut wird. Aus der Basedowbehandlung nach PLUMMER mit temporärer Zufuhr großer Jodmengen geht hervor, daß hier gleichfalls eine Steuerung der Thyroxinbildung durch das Substrat Jod vorliegt, indem durch diesen Jodstoß eine Bildungshemmung ausgelöst wird. Die notwendige Voraussetzung für den Erfolg des Jodstoßes ist eine qualitativ noch funktionsfähige *Jodsubstratsteuerung* der Schilddrüsenfunktion. Die notwendige Jodüberdosierung weist darauf hin, daß die als Hemmungsreiz notwendige Jodmenge übernormal groß sein muß. Wir wissen andererseits, daß durch eine Jodzufuhr ein „*Jodbasedow*" entstehen kann, der gleichfalls auf eine Substratsteuerstörung der Jodverwertung zurückgeführt werden muß. Ein vollkommener Jodmangel in der Nahrung führt zum *endemischen Kretinismus*, der als eine *Hypothyreose* angesehen werden muß. Die diätetische Behandlung des Morbus Basedow durch jodarme lakto-vegetabilische Kost und ebenso der geographisch günstige Einfluß eines Hochgebirgsaufenthaltes, der als jodarm angesprochen werden muß, sprechen ebenfalls im Sinne einer Substratsteuerung der Schilddrüsenhormonproduktion durch das Jod. Nun ist die Substratsteuerung der Hormonproduktion auch im Kohlehydratstoffwechsel für die Insulinproduktion durch Traubenzucker, Fruchtzucker u. a. nachgewiesen. Die enge *Koppelung* der assimilatorischen Stoffwechselwirkung[7, 8] durch die Insulin-Vagusfunktion weist auf die *starke korrelative Bedeutung* solcher *Steuerungssysteme* hin, deren schematische Darstellung wir unten (Schema III) versucht haben.

An dieser Stelle möchten wir noch auf ein anderes wichtiges Moment hinweisen. Das eigentliche Schilddrüsenhormon ist das *Thyreoglobulin*, d. h. die wirksame Gruppe des Thyroxins ist an einen Eiweißträger gebunden, ein Verhalten, das wir bei vielen Hormonen und Fermenten beobachten können. Wie Caddum [23a] gezeigt hat, kommt bei peroraler Zufuhr dem Thyreoglobulin eine stärkere Wirkung auf den Stoffwechsel zu als dem Thyroxin. Krayer [23b] wies nach, daß der Hauptanteil des Thyroxins in der Leber bzw. Galle zum Teil in unwirksamer Form nachgewiesen werden kann. Nun hat das *Thyreoglobulin* vom Schwein das *enorme Molekulargewicht* von 696000. Nach unserer Auffassung könnte die Caddumsche Feststellung des Wirkungsunterschiedes zwischen Thyreoglobulin und Thyroxin darauf zurückzuführen sein, daß auf dem enorm großen Thyreoglobulinmolekül durch den Verdauungsvorgang kleinste Thyroxinmengen abgespalten werden und zur Wirkung kommen, während der Krayersche Mechanismus den Organismus vor einer Thyroxinüberschwemmung schützt. Wir haben an anderer Stelle [15] für Hormone wegen ihres Potentialstoffcharakters die langsame Dauerzufuhr als den Weg gefunden, ihre optimale Wirksamkeit zu erreichen. Im Organismus selbst bewirkt ein sehr großes Thyreoglobulinmolekül eine langsame Abgabe aus der Schilddrüse, eine entsprechend lange Verweildauer in der Blutbahn und eine gleichfalls verlängerte Bindung am Wirkungsort. Es liegt also in der Eiweißbindung und der Molekulargröße wiederum ein Steuerungsmechanismus vor, der einmal eine optimale Wirkung des gebildeten Thyreoglobulins verbürgt und zum anderen eine toxische Wirkung verhindert. Es liegt nahe, daran zu denken, daß beim Morbus Basedow nicht nur rein mengenmäßig eine vermehrte Thyreoglobulinbildung statthat, sondern daß auch eine physiko-chemische Veränderung des Hormons möglich ist, die zu einer verstärkten Wirksamkeit führt. Wir sind uns des rein heuristischen Charakters dieser Hypothese und der sich hieraus ergebenden Aufgabe der experimentellen Fundierung durchaus bewußt.

Das Fehlen einer hinreichenden vagotonen Assimilation beim schweren Morbus Basedow und dem künstlichen Hyperthyreodismus führt über die dissimilatorische Verbrennungssteigerung zum weitgehenden Verbrauch der gespeicherten *akut verfügbaren Energiereserven*, d. h. zu einer *Glykogenverarmung*. Darüber hinaus wird nach Erschöpfung der energetisch sekundären Fett- und Eiweißreserven die Körpersubstanz selbst angegriffen, was durch die starke *Gewichtsabnahme* bei hinreichender Ernährung kenntlich wird. Die sympathikotone Umsatzsteigerung kann je nach Schwere der Erkrankung bis zu 100% und mehr des Grundumsatzes betragen. Das Fieber bei schwersten Fällen von Morbus Basedow ist nach unserer Auffassung der gleiche Vorgang wie die Erhöhung der Körpertemperatur [8], die wir bei maximaler Umsatzsteigerung durch Aminosäuren, z. B. das Histidin als letzte Regulationsstufe der dissimilatorischen Sympathikotonie beobachteten. Man darf diese Vorgänge wohl als *sympathikotone Schutzreaktion* ansehen.

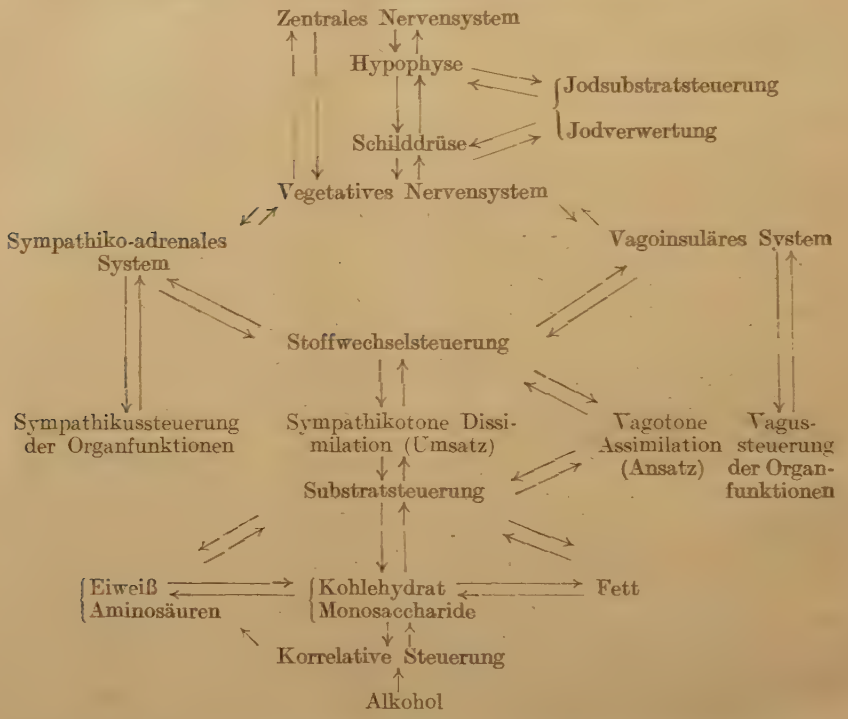
Das *Basedowherz* kann gleichfalls von derselben Grundlage aus betrachtet werden. Hier spielt die Tachykardie eine wesentliche Rolle insofern, als der energetische Verlust durch die innere Reibung [1] sich im Sinne einer verfrühten Abnutzung bemerkbar machen muß. Das Herz ist hier mit einem auf überhöhter Tourenzahl laufendem Motor zu vergleichen. Die Insuffizienzbereitschaft des Basedowherzens hat noch eine weitere Unterlage in dem Glykogenmangel infolge der Unterwertigkeit der assimilatorischen Funktionen des vagischen Systems. Zudem muß bei dem erhöhten energetischen Umsatz das Herz fortdauernd bei

[23a] Gaddum, J.: J. Physiol. (Brit.) **68**, 383 (1930). — [23b] Krayer, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **128**, 116 (1928).

Körperruhe schon ein erhöhtes Minutenvolumen fördern. Es ist einleuchtend, daß diese Dauermehrbelastung in der Ruhe sich in einer Einschränkung der Leistungsanpassung des Herzens an eine Mehrarbeit geltend machen muß.

Somit wäre die *pathologisch-physiologische Situation* beim *Morbus Basedow* kurz dahingehend zu definieren: *Fixation einer Steuerungsstörung im Sinne einer erhöhten dissimilatorischen Sympathikotonie bei mangelhafter Gegenregulation durch eine assimilatorische Vagotonie.*

Schema III. *Vegetativ-hormonale Funktionssteuerung.*



Wenn wir eine schematische Darstellung (Schema III) der bislang besprochenen Zusammenhänge versuchen, so sollen die Pfeilrichtungen die Richtungsmöglichkeiten der interrelativen und korrelativen Funktionszusammenhänge kennzeichnen.

Die Natur hat uns im Morbus Basedow geradezu einen *Idealfall* einer *vegetativ-hormonalen Steuerungsstörung* gegeben. Schwere und schwerste Fälle dieser Erkrankung versetzen uns in die Lage, die Richtigkeit der Auffassung aus unseren Beobachtungen [1–8, 13, 15] an Mensch und Tier über die „Substratsteuerung" und die „korrelative Steuerung" vegetativer Funktionen (Schema III) einer harten, aber eindeutigen Prüfung zu unterziehen. Wir haben in diesen Fällen ein „*Energetikum*

B IV" (E. B IV), das neben Alkohol, Lävulose, Dextrose, auch kleine Mengen der Aminosäure Glykokoll enthielt, zur Anwendung gebracht. Dies aber nur eines der möglichen Gemische und vielleicht noch keineswegs das optimale *E* zur Behandlung des Basedow und ähnlicher Störungen, denn wir betrachten diese Untersuchungen erst als den Anfang eines langen und keinesfalls leichten Weges. Die zugeführte Einzelmenge betrug 30—35 ccm, die Gesamttagesmenge schwankte von 150—400 ccm. Die zeitliche Verteilung und Quantitäten der Zufuhr hatten ihre Schwerpunkte, die dem Zweck einer Assimilationsförderung angepaßt waren. Sie richteten sich nach der Reaktion der Kranken auf das zugeführte *E*. Über diese Fragen soll später einmal berichtet werden, da sie die Anwendungsart der Energetika allgemein betreffen.

Wir hatten uns zur Behandlung die schwersten Fälle des Morbus Basedow gewählt, die nach Versagen jeder anderen therapeutischen Maßnahme operativ angegangen werden sollten. Alle hier wiedergegebenen Beobachtungen fallen in die Zeit vor der Operation, die von Professor Klapp am Ende durchgeführt wurde. Sie trug, wie wir noch sehen werden, dann eher den Charakter einer Palliativmaßnahme zur Verhütung von Rezidiven.

Der erste Fall betrifft eine Patientin M. im Alter von 33 Jahren, die $^1/_2$ Jahr vor der Aufnahme im Anschluß an ein psychisches Trauma erkrankte. Sie bekam Herzklopfen, Durchfälle, einen typischen Exophthalmus und nahm dauernd an Gewicht ab. Zudem hatte die Patientin infolge der Erregbarkeitssteigerung an erheblichen Schlafstörungen zu leiden.

Der Gesamtbefund ergab alle Zeichen eines schweren Morbus Basedow, vor allen Dingen einen erheblichen feinschlägigen Tremor, eine ausgesprochene Tachykardie von 90—120 Pulsen/Minute, Schlafstörungen und Durchfälle. Das *Gewicht* der 1,65 m großen Pat. betrug *bei der Aufnahme* 46,5 kg. Der Grundumsatz zeigte eine Erhöhung von 90% gegenüber den Benedictschen Bezugswerten. Alle bislang unternommenen Versuche einer therapeutischen Beeinflussung durch Diät und Schlafmittel waren erfolglos geblieben.

Wir begannen nun mit der *Energetikumbehandlung*, indem vom 2. 7. 43 bis 20. 7. 42 je Tag 300 ccm E. B IV in Einzeldosen von 30 ccm zugeführt wurden. Sehr bald und wohl als erstes Zeichen einer Wirkung trat eine Herabsetzung der psychischen Erregbarkeit ein, die von einer Gewichtszunahme (Tabelle 1) gefolgt war. Von da ab wurde die *Tagesmenge E auf 400 ccm* erhöht, und vom 20. 7. bis 7. 11. 42 beibehalten. Der Zustand besserte sich weiterhin wesentlich. Die Patientin zeigte bereits rein äußerlich eine deutliche Änderung ihres Zustandes. Objektiv war der Tremor und ebenso die erhöhte psychogene Erregbarkeit verschwunden, was auch mit der Wiederkehr *normalen Schlafes* verbunden war. Die Tachykardie war noch nicht so wesentlich zurück-

Tabelle 1.

Pat. M. Diagnose: Morbus Basedow. Körpergewicht 46,5 kg.

Datum	Tag seit E.-Zufuhr	Zunahme des Körpergewichts kg	Zunahme je Tag g	Zunahme des Körpergewichts %
20. 7. 42	30	3,3	109	7,1
24. 8. 42	65	6,0	171	12,8
31. 8. 42	42	8,4	344	18,0
19. 9. 42	92	13,0	242	28,0
13. 10. 42	116	16,0	125	34,5
19. 10. 42	122	17,5	250	37,7
8. 11. 42	142	20,5	150	44,0

gegangen. Im Laufe der nächsten Monate bis zum 7. 11. 42 stieg das *Körpergewicht* (Tabelle 1) mit der allmählichen Abnahme der objektiven Symptome um 20,5 kg auf 67.5 kg. Diese *Gewichtszunahme* entspricht einer Erhöhung von 44,0%. Aus den Zahlen der Tabelle 1 ergibt sich ein Bild, in welcher Art die Gewichtszunahme erfolgt. Die Zunahmemenge in Gramm je Tag bezieht sich immer auf die betreffende Beobachtungsperiode. Die mit dem *E* zugeführte anlagerungsfähige Substanzmenge würde, wenn außer dem Alkohol nichts verbrannte, 136 g je Tag ausmachen. Wir sehen, daß im 2. und 3. Monat die tägliche Gewichtszunahme diese Menge um 153% und 78,5% übersteigt. Gegen das Ende der Behandlung erfährt die tägliche Gewichtszunahme eine Verlangsamung. Das Maximum des Ansatzes mit 344 g je Tag zeigt schon ein ungewöhnliches Ausmaß. Hier werden einem die tiefgreifenden Änderungen innerhalb der energetischen Vorgänge recht klar, wie sie durch die Beeinflussung der Stoffwechselbilanz über die Steuerwirkung des *E* zustande kommen. Wenn man bedenkt, bis zu welchen Graden der Konsumption der Körpersubstanz es unter der pathologisch fixierten Verbrennungssteigerung dieses schweren Falles von Morbus Basedow gekommen war, so kann die Gesamtzunahme des Körpergewichts um 20,5 kg bzw. 44% des Ausgangskörpergewichts einen tiefen Eindruck nicht verfehlen. Mit den Änderungen der Stoffwechselbilanz, wie sie am Verhalten des Körpergewichtes zum Ausdruck kommt, verschwanden auch die anderen wesentlichen Zeichen der Erkrankung, so daß die Patientin schon als geheilt angesehen werden konnte. Die am Ende der Energetikumbehandlung von Professor KLAPP vorgenommene operative Verkleinerung der Schilddrüse als Palliativmaßnahme zur Verhinderung von Rezidiven verlief ohne die sonst bei Basedowoperationen beobachteten Erscheinungen fast symptomlos.

Von Interesse ist die pathologisch-histologische Untersuchung durch Professor VERSÉ:

Pathologisches Institut. J.-Nr. 2027/42. An Stelle der Follikel finden sich in dem eingesandten Schilddrüsenstückchen der Pat. Elis. M. schmale, schlauch-

Tabelle 2.

Pat. H. Diagnose: Morbus Basedow. Körpergewicht 45,0 kg.

Datum	Tag seit E.-Zufuhr	Zunahme des Körpergewichts kg	Zunahme je Tag g	Zunahme des Körpergewichts %
30. 7. 42	20	3,0	150	6,7
19. 8. 42	40	6,0	150	13,3
29. 8. 42	50	9,0	300	20,0
28. 9. 42	80	15,0	200	33,3
18. 10. 42	100	17,5	125	39,0
17. 11. 42	129	19,5	69	43,3

artige, sich teilweise auch verästelnde Gebilde mit leerem Lumen, wie sie für die Basedowschilddrüse charakteristisch sind. Dazwischen liegen noch verhältnismäßig wenige Bläschen, die mit einer dünnen Kolloidmasse gefüllt sind. Ab und zu auch Rundzellenlagerungen. An anderer Stelle sind diese kolloidgefüllten Bläschen wieder reichlicher. Das ganze Bild ist infolgedessen nicht einheitlich. Es überwiegen aber die *Basedowstrukturen*.

Neben den Basedowstrukturen finden sich bereits mit Schilddrüsenkolloid gefüllte Follikel, die das Bild einer normal funktionierenden Schilddrüse darstellen. Also auch histologisch ergibt sich ein Bild, das dem Funktionszustand gleichgerichtet ist.

Ein zweiter einwandfreier Fall von schwerem Morbus Basedow betrifft eine 45jährige Patientin H. (Tabelle 2), die mit 45 kg Körpergewicht bei 158 cm Körpergröße zur Aufnahme kam. Der Grundumsatz war um 83% erhöht. Es bestand Tremor, Exophthalmus, eine starke Tachykardie und eine mäßige Schilddrüsenvergrößerung.

Vom 20. bis 28. 7. 42 bekam die Patientin 210 ccm E. B IV in Einzeldosen zu 30 ccm, vom 28. 7. bis 17. 11. 42 wurde die Tagesmenge von 400 ccm E. B IV in Einzeldosen von 40 ccm gegeben. Aus den in Tabelle 2 verzeichneten Zahlen geht ein dem vorigen Falle (Tabelle 1) sehr ähnliches Verhalten hervor. Die Gesamtgewichtszunahme beträgt nach 129 Behandlungstagen 19,5 kg bzw. 43,3% des Ausgangskörpergewichts. Auch hier sehen wir, wie die Stoffwechselbilanz im zweiten und dritten Behandlungsmonat mit einem täglichen Ansatz von 300 bzw. 200 g am stärksten positiv ist. Wenn man nur die Gewichtskurve betrachtet, so kann man sich auch hier nicht den Eindruck entziehen, daß durch die Steuerwirkung des *E* ein ganz enormer Umschwung im Stoffwechselgeschehen vor sich gegangen ist. Die Ähnlichkeit der therapeutischen Beeinflussung ergibt sich auch aus dem Vergleich der beiden Körpergewichts- bzw. Ansatztabellen. Auch im vorliegenden Falle war die augenfälligste Primärwirkung des *E* eine sedative, d.h. die Erregung ließ merklich nach und sehr bald hatte die Patientin einen normalen und tiefen Schlaf. Recht frühzeitig verschwand der kleinschlägige Tremor der Finger. Genau wie beim vorigen Falle M. hielt am längsten das Symptom der Tachykardie der Beeinflussung

stand. Den letzten Monat der Energetikumbehandlung konnte die Patientin praktisch als geheilt gelten. Auch hier wurde als Palliativmaßnahme eine Schilddrüsenoperation vorgenommen. Die operative Schilddrüsenverkleinerung wurde auch in diesem Falle so gut wie symptomlos vertragen.

Die histologische Untersuchung eines Stückes des exstirpierten Schilddrüsenteiles durch Professor VERSÉ ergab folgenden Befund:

Pathologisches Institut. J.-Nr. 2047/42. An dem exstirpierten Gewebsstück aus der Schilddrüse der Pat. Elis. Barbara H. finden sich in der Peripherie kolloidgefüllte Follikel von verschiedener Größe, zum Teil auch Zysten. Die anstoßenden Teile sind stärker fibrös umgewandelt, teilweise auch erweicht. Die Follikel hier stark reduziert und in Atrophie begriffen. Jedenfalls weist der bei weitem größte Teil des Stückes regressive Metamorphosen auf. Am Rande sind an anderen Stellen auch stärkere chronisch entzündliche Veränderungen zu bemerken. Hier ist der Bau stellenweise auch mehr mikrofollikulär. Eigentliche Basedowstrukturen finden sich nicht. Diagnose: *Struma nodosa colloides* mit starken *regressiven Metamorphosen*.

In diesem Falle weist die Schilddrüse keine Basedowstrukturen mehr auf. Wesentlich sind die *regressiven Metamorphosen* und Follikelatrophien, die die Möglichkeit nahelegt, daß die unter Energetikumzufuhr beobachtete Stoffwechselbilanzumkehr im histologischen Befund eine Stütze erfährt. Regressive Metamorphosen waren auch in den übrigen operierten Fällen histologisch festgestellt worden, so daß ein ursächlicher Zusammenhang zwischen der Energetikumbehandlung, seiner funktionellen Wirkung und den histologischen Bildern im Bereiche der Wahrscheinlichkeit liegt.

Auf die gleiche Art wurden noch 4 weitere Basedowpatientinnen mit E. B IV behandelt, wobei die täglichen Gewichtszunahmen von 130 bis 150 g je Tag betrugen. Ein Fall eines Morbus Basedow im Beginn der Erkrankung konnte nach 30 Tagen Behandlungsdauer ohne Operation geheilt entlassen werden.

Zusammengefasst ist zu sagen, daß es uns ausnahmsos gelungen ist, in den bisher mit *E* behandelten Fällen von *Morbus Basedow* eine symptomatische Heilung zu erzielen. Aus den *Gewichtskurven* (Tabelle 1 und 2) allein ergibt sich, daß das *Kardinalsystem der pathologischen Fixation des energetischen Umsatzes auf einer abnormen Höhe* die in einer negativen Stoffwechselbilanz mit einem erheblichen Substanzverlust des Organismus ihren Ausdruck findet, durch die Steuerwirkung des *E vollkommen* aufgehoben wird. Das kalorische Äquivalent von 197 Kal./Tag der Energetikummenge spielt rein mengenmäßig nicht die Hauptrolle bei seiner therapeutischen Wirkung beim Morbus Basedow. Der „*Substratsteuerwert*" des E. B IV wurde durch den Glykokollzusatz, dessen Einfluß in dieser Richtung schon früher von uns[8] analysiert worden war, erheblich erhöht. Die *korrelative Steuerwirkung* des Alkohols wirkt auf den Baustoffwechsel in gleicher

Richtung ansatzfördernd (Tabelle 1 und 2). Die toxische *Alkoholnebenwirkung*, die beim Morbus Basedow besonders ausgesprochen zu sein pflegt, wurde in *keinem einzigen Falle* beobachtet. Wir glauben annehmen zu dürfen, daß die *therapeutische Energetikumwirkung* in den Fällen einer pathologischen Überfunktion der Schilddrüse andere z. B. auch operative Maßnahmen, zu ersetzen vermag. Denn selbst bei Eintritt eines Rezidivs steht einer erneuten Energetikumanwendung nichts im Wege. Wie bereits erwähnt, werden alle Symptome des Morbus Basedow durch die Substratsteuerwirkung beseitigt. Besonders augenfällig war die Beeinflussung des *Schlafs*, der normal und sehr tief wurde. Vollkommen unabhängig von den theoretischen Betrachtungen, die wir bislang angestellt haben, stehen die therapeutischen Energetikumwirkungen als beobachtete Tatsache fest. Die Notwendigkeit einer sehr langen Behandlung ergibt sich zwangsläufig aus unseren Beobachtungen. Wir halten eine stärkere Forcierung der Energetikumzufuhr nicht für angebracht, da sie die Gefahr einer störenden kompensatorischen Gegenregulation in sich birgt. Zur weiteren Klärung des Wirkungsmechanismus und der sich daraus ergebenden therapeutischen Anwendungsart der Energetika müssen noch weitere Untersuchungen angestellt werden.

Eine kurze Betrachtung einiger bisheriger therapeutischer Maßnahmen beim Morbus Basedow lohnt sich besonders, wenn wir sie im Zusammenhang mit unseren Erfahrungen zu betrachten versuchen. Die sofortige Operation ohne entsprechende Vorbereitung war mit einer hohen Mortalität verbunden. Das postoperative Bild dieser Pat. machte den Eindruck einer akuten Verschlimmerung mit einer aufs höchste gesteigerten Erregbarkeit, Herzjagen usw., die wohl auf einer Einschwemmung des reichlich vorhandenen und leicht mobilen Schilddrüsenhormons beruht. Aus diesem Grunde hat man versucht, durch eine vorbereitende Therapie zumindest einen Stillstand oder eine kurze Umkehr der dissimilatorischen Stoffwechselphase, die am Stillstand der Gewichtsabnahme oder einer Gewichtszunahme erkenntlich ist, zu erreichen. Der bevorzugte Hauptweg bestand in dem bekannten Jodstoß, über dessen Wesen wir oben (s. auch Schema III) sprachen. Da die Steuerungsstörung beim Morbus Basedow auch die Jodverwertung, d. h. Thyroxinbildung betrifft, ist der Einfluß der Jodzufuhr zu unsicher.

Eine von Bier inaugurierte therapeutische Methode der intramuskulären *Eigenblutinjektion* möchten wir auf den parenteralen langsamen Blutabbau zurückführen, unter den entstehenden *Aminosäuren* dürfte funktionell das *Histidin* die größte Rolle spielen. Das *Globin* im Hämoglobin enthält mit etwa 11% gegenüber etwa 1% anderer Eiweißkörper weitaus die größte Histidinmenge, dessen *hohen Substratsteuerwert* wir früher[8] festgestellt haben. Der Abbau intramuskulärer Hämatome läuft bekanntlich sehr langsam ab, so daß man eine assimilatorische Steuerwirkung der dabei freiwerdenden kleinen Histidinmengen erwarten darf. Bereits oben erwähnten wir diätetische Maßnahmen, die durch die mäßige Eiweißzufuhr bei reichlichem Kohlehydrathaushalt die assimilatorische Sparwirkung kleiner Aminosäuremengen zur Geltung bringen kann. Dies trifft aber nur dann zu, wenn die Fälle leicht sind, d. h. das durch endogenen Eiweißabbau bedingte hohe Aminosäureangebot mit seiner dissimilationssteigernden Wirkung des schweren Morbus Basedow fehlt. Ähnlich liegt es mit dem geographisch bedingten

Jodmangel der Hochgebirgsbehandlung. Keine der hier gestreiften *therapeutischen Methoden* kann sich aber an *Sicherheit* und *Intensität mit der Energetikumbehandlung messen.*

Septische Zustände.

Die pathologisch-physiologische Situation septischer Zustände, wie sie sich z. B. bei schweren und schwersten Wundinfektionen ergeben, kann weitgehend vom Stoffwechsel her verstanden werden. Den Ausgang bildet häufig eine *Erschöpfung der Energiereserren* des Organismus. Durch den Einfluß der Erreger kommt es zum entzündlichen Gewebszerfall, der hierdurch bedingte endogene Eiweißabbau führt zur Bildung verhältnismäßig großer Aminosäuremengen, die infolge ihrer hohen spezifisch-dynamischen Wirkung eine Umsatzsteigerung herbeiführen müssen. Die Temperaturerhöhung als zweite Erscheinung der stark gesteigerten Dissimilationsvorgänge tritt uns als septisches Fieber entgegen. Im Extremfalle kommt es bei plötzlichem und starkem Eiweißzerfall zum Schüttelfrost, der die Einleitung zu den hochfieberhaften Zuständen darstellt. Nach parenteraler Zufuhr größerer Aminosäuremengen bzw. Gemischen von Aminosäuren sind gleichfalls Schüttelfröste beobachtet worden.

Aus der Darstellung von BORNSTEIN und HOLM [24] ergibt sich eine Teilnahme parenteral zugeführten Eiweißkörper am Stoffwechsel. Eine Erhöhung des *respiratorischen Gaswechsels*, der mit *Fieber* verbunden war, wird von diesen Autoren als eine *Reizwirkung* des *parenteral zugeführten Eiweißes* angesehen. Nach Untersuchungen von SETH, NATH und LUCK [25] verlaufen die Kurven der *„spezifisch-dynamischen Wirkung* des *Eiweißes"* und des *Aminosäuregehaltes* des *Blutes parallel*. Im Zusammenhang mit unseren Versuchen [8] ist diese Feststellung von *größter Wichtigkeit*. Wir können hieraus sagen, daß den Aminosäuren ohne weiteren Abbau die Stoffwechselsteuerwirkung zukommt.

Mit dem erhöhten Eiweißzerfall ist ein Substanzverlust durch die Eiterung verbunden. Bei mangelnder Ergänzung durch Brenn- und Baustoffe in der Nahrung, die infolge geringen oder fehlenden Appetits häufig unzureichend wird, ist der Eintritt einer lebensgefährlichen Erschöpfung überaus häufig. Die starke Inanspruchnahme der Leber infolge des großen Anfalles an Stickstoff bzw. Aminosäuren kann zu Leberinsuffizienzerscheinungen führen, wie sie aus subikterischen oder ikterischen Symptomen erkennbar werden. Ganz allgemein liegt bei derartigen Erkrankungen von seiten des Stoff- und Energiewechsels eine erhöhte dissimilatorische Sympathikotonie vor, der keine entsprechende gegenregulatorische Assimilationsvagotonie gegenübersteht.

Es ist klar, daß in solchen Fällen der *chirurgischen Behandlung* der Entfernung bzw. Entlastung des Infektionsherdes das *Primat* zu-

[24] BORNSTEIN u. HOLM: Gesamtstoffwechsel bei einseitiger und normaler Ernährung. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 5. Berlin: Springer 1929. — [25] SETH, NATH u. LUCK: Biochem. J. 19, 366 (1925).

kommt. Diese macht aber den Versuch einer Beseitigung bzw. Beeinflussung der eben kurz charakterisierten Stoffwechselstörungen durch *Energetikumbehandlung* keineswegs überflüssig. Aus diesen Gründen wurden unsere Untersuchungen unternommen. Auch hier beschränken wir uns hauptsächlich auf die Wiedergabe der *Gewichtskurven*, die uns das beste Bild der Stoffwechselbilanzrichtung geben.

Der erste hier wiedergegebene Fall betrifft den Patienten J., bei dem infolge einer Lungenschußverletzung rechts mit anschließendem Empyem und teilweisen Einschmelzungen der Lunge eine Thorakoplastik von Professor KLAPP durchgeführt wurde. Der Patient war infolge des langdauernden septischen Fiebers in einem stark reduzierten Ernährungszustand, das Körpergewicht betrug nur 45 kg bei 1,70 m Körpergröße. Vom 16. 8. 43 ab bekam der Patient 200 ccm E_1 je Tag, am 3. 9. 43 war eine Gewichtszunahme von 7 kg zu verzeichnen. Die Temperatur fiel in den ersten 10 Tagen auf normale Werte, ebenso wurde die Eiterung minimal und sistierte bald vollkommen. Interessant ist die Gewichtskurve des Patienten (Tabelle 3), die die stärkste je von uns beobachtete Körpergewichtszunahme um 23 kg, d. h. 51,2% des Ausgangskörpergewichts, ausmachte. Diese Gewichtszunahme ereignete sich im Laufe von 148 Tagen. Der Verlauf der täglichen Gewichtszunahmen (Tabelle 3) zeigt das Maximum von 389 g je Tag in der ersten Periode von 18 Tagen, während bei den schweren Fällen von Morbus Basedow das Maximum des täglichen Ansatzes erst nach etwa 60 Tagen erreicht wurde. Dieser Unterschied ist von Wichtigkeit, weil er aufzeigt, daß zur Überwindung der Steuerungsstörungen des Stoffwechsels beim Basedow eine gewisse Zeit notwendig ist. Der Appetit der so behandelten Patienten wuchs zusehends, dies dürfte auf die starke assimilatorische Steuerwirkung des E_1 zurückzuführen

Tabelle 3.

Pat. J. Diagnose: Pleuraempyem, Thorakoplastik. Körpergewicht 45,0 kg.

Datum	Tage der E.-Zufuhr	Zunahme des Körpergewichts kg	Zunahme je Tag g	Zunahme des Körpergewichts %
3. 9. 43	18	7,0	389	15,5
11. 9. 43	8	8,0	125	17,8
19. 9. 43	8	10,0	250	22,2
25. 9. 43	7	12,0	286	26,7
2. 10. 43	7	12,8	114	27,5
12. 10. 43	10	15,0	220	33,3
20. 10. 43	10	15,8	80	35,1
31. 10. 43	11	16,5	63	36,7
10. 11. 43	10	19,0	250	42,3
17. 11. 43	7	20,0	143	44,5
25. 11. 43	7	21,0	143	46,7
10. 12. 43	15	22,0	67	48,9
10. 1. 44	30	23,0	33	51,2

sein. Im Grunde liegt hier ein ähnlicher Vorgang vor, wie bei der Insulinmastkur, nur daß in unserem Falle die durch die Energetikumglykämie erregte Insulineigenproduktion an Stelle des injizierten Fremdinsulins tritt. Die vollständige Erholung hielt mit der Stoffwechselbilanz Schritt.

Wir haben noch mehrfach bei ähnlichen Fällen von Thorakoplastiken nach Lungenschußverletzungen mit septischen Infektionen eine ausgezeichneten Steuerwirkung des E_1 gesehen.

Ein anderer Patient S. mit einer Schußfraktur des rechten Oberarmes kam unter schweren septischen Erscheinungen zur Aufnahme. Der Zustand des Patienten hinsichtlich seiner Ernährung und des allgemeinen Kräftezustandes war ausgesprochen schlecht. Eine *Drahtschwebelagerung* des Armes nach KLAPP machte das Wägen unmöglich. Unter der Energetikumbehandlung war eine augenfällige Besserung zu beobachten, die objektiv am Verhalten der Temperatur- und Pulskurve erkennbar wurde. Als sehr wesentlich erscheint uns das Nachlassen bzw. Aufhören der Eiterabsonderung innerhalb von 14 Tagen, die doch wohl als Zeichen des Rückganges der Entzündung gedeutet werden darf. Eine Verringerung der Zufuhr vom 13. bis 21. 4. 43 oder ein vollkommenes Absetzen vom 23. bis 30. 5. 43 hatte einen ungünstigen Einfluß. Die ab 31. 5 bis zum 5. 7. 43 durchgeführte weitere Zufuhr von 300 ccm E_1 je Tag brachte in kurzer Zeit eine Heilung und ausgezeichnete Erholung.

Von besonderem Interesse ist der Patient J., der mit einer seit 2 Jahren bestehenden osteomyelitischen Unterschenkeleiterung keine Tendenz zur Heilung aufzeigte. Wie aus der folgenden Tabelle 4, Puls- und Gewichtskurve ersehen werden kann, hat die Zufuhr von 500—1000 bis 750—250 ccm je Tag eine sehr schöne Beeinflussung der Pulskurve zur Folge, die fast parallel der Dosengröße verläuft.

Die Beeinflussung der Herzfrequenz über die Substratsteuerung geht ja aus dem in Tabelle 4 wiedergegebenen Versuch deutlich hervor. Wir sehen hier bei der Tagesmenge von 500 ccm E_1, daß die Pulszahl um 33,3% ansteigt. Erhöht man die Energetikumzufuhr auf 1000 ccm je Tag, übersteigt die Herzfrequenz den Ausgangswert um 84,2%. Die Pulszahl von 110 je Minute deutet auf das Bestehen einer dissimilatorischen Sympathikotonie hin. Die Zahlen der Körpergewichtszunahmen zeigen deutlich, daß mit steigernder Energetikumzufuhr die dissimilatorischen Stoffwechselvorgänge in den Vordergrund treten. An der Gewichtskurve als Ausdruck der Stoffwechselbilanz kommt dies in einer Herabsetzung des täglichen Ansatzes von 250 g bei 500 ccm, 100 g bei 1000 ccm und 266 g bei 750 ccm E_1 zum Ausdruck. Bei einer Herabsetzung auf 250 ccm E_1 je Tag kommt es in 5 Tagen

Tabelle 4.

Pat. J. Alter 24 Jahre. Diagnose: Osteomyelitis des li. Unterschenkels nach Schußfraktur. Körpergewicht 50 kg. Größe 1,70 m. Datum 7. 2. 41.

Datum	Tage der E.-Zufuhr	Zunahme des Körpergewichts kg	Zunahme je Tag g	Zunahme des Körpergewichts %	E.-Menge je Tag ccm	Puls Min.
7. 2. 41	0	0	0	0	0	60
15. 2. 41	8	2,0	250	4,0	500	80
17. 2. 41	2	2,2	100	4,4	1000	110
20. 2. 41	3	3,0	266	6,0	750	96
25. 2. 41	5	6,0	600	12,0	250	80
2. 3. 41	7	6,5	71	13,0		70
8. 3. 41	6	11,0	750	22,0	300	85
13. 3. 41	5	12,5	300	25,0	300	85

zu einer enormen Ansatzsteigerung von 600 g je Tag. Die Unterbrechung der Energetikumzufuhr um eine Woche setzt die Gewichtszunahme auf 71g je Tag herab. 10 Tage nach Beginn der Energetikumbehandlung hat die chronische Eiterabsonderung vollkommen aufgehört und am 20. Tage war die Restwunde vollkommen zugeheilt. Nachdem die Unterbrechung der Energetikumbehandlung gezeigt hatte, daß der Patient zur vollkommenen Wiederherstellung seines normalen Kräftezustandes einer Weiterbehandlung bedürfe, bekam er eine Tagesdosis von 300 ccm E_1. Hierdurch wurde innerhalb der nächsten 6 Tage der höchste von uns überhaupt beobachtete tägliche Ansatz von 750 g registriert. Die tägliche Nahrungsaufnahme war der Appetitssteigerung gemäß schon recht erheblich. Aus den Zahlen der Tabelle 4 geht klar hervor, daß die Hauptwirkung des E_1 in diesen Fällen nicht etwa von der zugehörigen Menge, d. h. der Größe seines kalorischen Äquivalentes abhängt, sondern von dem *Stoffwechselsteuerwert* der zugeführten Menge. Die genaue Pulskontrolle ist ein zuverlässiger Gradmesser der erstrebten Energetikumwirkung. Wird ein Überwiegen der assimilatorischen Vagotonie in der Stoffwechselbilanz erstrebt, dann sollte die Gesamttagesmenge des jeweilig zugeführten E_1 (bei einem Gehalt von 2000 Kalorien je Liter) 400 ccm nicht überschreiten. Diese als ein Beispiel aus einer großen Reihe von Beobachtungen in Tabelle 4 dargestellte Energetikumbehandlung zeigt die Bedeutung der Dosierung. In der ersten Hälfte der Behandlungszeit kommt es unter dem Einfluß großer Energetikummengen von 500 bis 1000 ccm je Tag zu einer schnellen und restlosen Wundheilung, das Körpergewicht nimmt bis 20. 2. aber nur um 6% zu. Als nun in der zweiten Hälfte der Behandlung, die insgesamt nur 36 Tage dauerte, mit kleineren Dosen von 250—300 ccm E_1 je Tag erfolgte, ist das Körpergewicht mit 12,5 kg am Ende um 25% angestiegen. Es dürfte

auch dieser Fall geeignet sein, unsere theoretischen Überlegungen zu unterstützen.

Wir haben bislang Beispiele sehr schwerer akuter und vorangehend eines chronischen septischen Prozesses geschildert, aus denen die assimilatorische Umkehr der Stoffwechselvorgänge durch die Substratsteuerwirkung der Energetika deutlich wird.

Nun gibt es aber zahlreiche Fälle von Rekonvaleszenzhemmungen nach Verletzungen, bei denen als einzige therapeutische Maßnahme die Energetikumzufuhr erfolgversprechend schien. Eine Reihe weiterer Fälle betraf nun solche adynamen Zustände nach schweren mit septischen Infektionen einhergehenden Verletzungen. Die Patienten waren praktisch geheilt, d. h. fieberfrei ohne offene Wunden. Die nebenstehende Gewichtskurve in Tabelle 5 vom Patienten Dr. H., der eine Ankylose eines Kniegelenks nach Empyem aufwies, zeigte 6 Monate nach der chirurgischen Heilung noch ein Untergewicht von 54 kg bei 1,72 m Körpergröße.

Auch hier sehen wir mit einem maximalen täglichen Ansatz von 433 g innerhalb einer Behandlungsdauer von 17 Tagen eine Zunahme von 9,3% des Körpergewichts. Dabei trat eine augenfällige Besserung des subjektiven Befindens wie auch der objektiven Leistungsfähigkeit ein. Desgleichen wurde der vorher gestörte Schlaf regelmäßig und tief. Eine Unterbrechung von 16 Tagen der Energetikumbehandlung hatte praktisch einen Gewichtsstillstand zur Folge. Der ursächliche Zusammenhang der Gewichtszunahme wie auch die hier besonders regulative Beeinflussung des Schlafs wurde durch die Unterbrechung der Energetikumzufuhr recht deutlich. Ebenso wurde in diesem Falle mit der kleineren Energetikummenge von 300 ccm je Tag eine Beeinflussung der Stoffwechselbilanz im assimilatorischen Sinne erreicht, so daß die Zunahme des Körpergewichts in dem letzten Teil der Behandlungszeit

Tabelle 5.

Pat. Dr. H. Diagnose: Ankylose des re. Kniegelenks nach Empyem, Adynamie. Größe 1,72 m. Gewicht: 54 kg. Datum 27. 1. 42.

Datum	Tag der E.-Zufuhr	Zunahme des Körpergewichts kg	Zunahme je Tag g	Zunahme des Kö.pergewichts %	E.-Menge je Tag ccm
5. 2. 42	0	0	0	0	500
10. 2. 42	5	1,4	280	2,6	500
16. 2. 42	6	4,0	433	7,4	500
22. 2. 42	6	5,0	167	9,3	500
2. 3. 42	10	4,8	20	8,9	
8. 3. 42	6	5,0	0	9,3	
15. 3. 42	7	8,0	428	14.8	300
21. 3. 42	6	9,5	250	17,6	300

mit 9,5 kg auf 17,6% des Ausgangskörpergewichts anstieg. Bemerkenswert war auch bei diesem Patienten die ausgesprochene Zunahme des Appetits, der einer erheblichen Appetitlosigkeit Platz machte, die wohl mit Recht als die Ursache der verzögerten Rekonvaleszenz angesehen wurde. Wir haben schon oben auf die Wahrscheinlichkeit hingewiesen, daß eine Steigerung der Eigeninsulinproduktion durch das E_1 angeregt werden dürfte, die ihrerseits für das Hungergefühl verantwortlich gemacht wird. Aus diesem Grunde legen wir Wert darauf, daß bei der Einteilung der Einzeldosen ein genauer Plan eingehalten wird, in dem unter anderem 1 Stunde vor jeder Hauptmahlzeit eine Energetikumdose von 50—100 ccm gegeben wird. Zur weiteren Ausarbeitung der Anwendung stoffwechselsteuernder Substrate in der Therapie bedarf es einer engen Zusammenarbeit zwischen den Klinikern und Theoretikern, um unter möglichster Vermeidung von Fehlern eine optimale Wirkung zu erreichen.

Den gleichen Erfolg wie in diesem Falle haben wir noch vielfach bei ähnlichen Adynamien bestätigen können. Besonders deutlich wurden unter diesen Umständen bei zu frühzeitiger Unterbrechung der Energetikumzufuhr die Gewichtsstillstände, die eindeutig auf die Steuerwirkung hinweisen. Wir erachten auch diese Energetikumwirkung als eine wesentliche Stütze der am Eingang dieses Abschnittes gestellten Betrachtungen. Es zeigt sich aus den Beobachtungen, daß eine Fixation der Stoffwechsellage als pathologische Situation mit der Energetikumzufuhr durchbrochen werden kann. Ebenso augenfällig ist die Notwendigkeit einer langdauernden ununterbrochenen Zufuhr, einer planmäßigen Wahl der Gesamtmenge und Einteilung der Tageseinzeldosen, um die natürlichen Steuerungen der Stoffwechsel- und Lebensvorgänge durch die tagesperiodische Rhythmik[13] wiederherzustellen. Jede vorzeitige Unterbrechung läßt die Fixationsneigung in einem Gewichtsstillstand wieder hervortreten.

Traumatische Leberinsuffizienz.

Eine besondere Aufmerksamkeit wandten wir der *Leberfunktion* zu. Vor Jahren hatten wir schon gemeinsam mit Holm beobachtet, daß 2 Fälle mit akuter gelber Leberatrophie durch Zufuhr großer Lävulosemengen geheilt werden konnten. Im vorliegenden Falle einer schweren traumatischen Leberverletzung (Hufschlag) kam der Patient B. in bewußtlosem Zustand zur Aufnahme. Der etwa 12 cm lange tiefe Leberriß wurde operativ durch Naht verschlossen. Da bei dem bestehenden Koma keine andere Möglichkeit blieb, wurde eine intravenöse Energetikumzufuhr (E_V) angewandt. Dabei wurden am 1. und 2. Tag je 4 Injektionen von 15 Min. Dauer mit je 40 g Lävulose, 15 g Dextrose und 2 g Alkohol in physiologischer Kochsalzlösung in entsprechender

Tabelle 6.

Pat. B. Diagnose: Traumatische Leberruptur. Coma hepaticum. Größe 1,68 m. Körpergewicht 46 kg. Datum 21. 7. 41.

Datum	Tage der E.-Zufuhr	Zunahme des Körpergewichts	Zunahme je Tag	Zunahme des Körpergewichts	E.-Menge je Tag
		kg	g	%	ccm
31. 7. 41	7	2,5	360	5,4	500
7. 8. 41	7	3,5	142	7,6	500
11. 8. 41	5	3,0	100	6,5	
18. 8. 41	7	5,0	285	10,8	750
25. 8. 41	7	7,0	285	15,2	400
1. 9. 41	7	10,5	500	22,9	400

Verdünnung infundiert. Die auf diese Art zugeführte Gesamtkalorienmenge betrug 916 Kalorien je Tag. Die Wirkung kam dadurch eindeutig am Kreislauf zum Ausdruck, daß das Verhältnis des systolischen zum diastolischen Blutdruck sich von 130 : 90 mm Hg auf 138 : 50 mm Hg bei gleichbleibender Pulsfrequenz änderte. Gegen Mittag des 2. Tages erwachte der Patient aus seinem komatösen Zustand. Von da ab bekam er täglich 500 ccm E_1 per os mit dem Effekt, daß eine rapide subjektive und objektive Besserung einsetzte. Am 10. Tage nach der Operation war der Kranke fieberfrei. Wie aus der Gewichtskurve (Tabelle 6) hervorgeht, nahm der Patient in den ersten 7 Tagen der Energetikumzufuhr 2,5 kg an Gewicht zu, was einem täglichen Ansatz von 360 g entspricht. Die folgende Woche betrug die Zunahme nur 1,0 kg. Immerhin ist eine Gewichtszunahme in 14 Tagen von 3,5 kg ein recht erfreuliches Ergebnis. Eine Unterbrechung der Energetikumbehandlung hatte in 5 Tagen einen Gewichtsverlust von 500 g zur Folge. Die Wiederaufnahme der Energetikumbehandlung mit 750 ccm je Tag bewirkte einen erneuten Gewichtsanstieg um 2 kg. Wir setzten auf Grund unserer bisherigen Erfahrungen die Menge auf 400 ccm je Tag herab, um der assimilatorischen Stoffwechselphase eine stärkere Betonung zu geben. In der ersten Woche blieb die Zunahme mit 285 g je Tag noch unverändert, wohingegen in der darauffolgenden Woche mit dem enormen täglichen Ansatz von 500 g das Körpergewicht mit einer Gesamtzunahme von 10,5 kg, d. h. 22,9% Zunahme erreichte (Tabelle 6). Angesichts seines guten Allgemeinzustandes konnte der Patient als vollständig geheilt entlassen werden.

Der Verlauf dieser Erkrankung und ihre Beeinflussung durch das E_1 waren augenfällig. Eine traumatisch bedingte funktionelle Leberinsuffizienz mit einem Koma konnte zuerst durch intravenöse Energetikumzufuhr, die durch eine weitere perorale fortgesetzt wurde, erfolgreich behandelt werden. Der hohe Lävulosegehalt des parenteralen E_V wurde wegen ihrer hohen leberglykogenbildenden Fähigkeit [8]

gewählt. Der Verlauf dieser durch traumatische Einwirkung bedingten Leberinsuffizienz war neben der erfolgreichen operativen Behandlung durch KLAPP doch wohl in seiner recht schnellen Erholung, die sowohl im subjektiven Befinden als auch durch den objektiven Befund bestätigt wurde, wohl durch den substratsteuernden Einfluß des E_1 bedingt. Sehr bald sollten wir Gelegenheit haben, an einem ähnlichen Falle dieses Prinzip weiterhin therapeutisch zu erproben. Diesmal lag ebenfalls ein traumatisch bedingtes Coma hepaticum vor.

Der Patient S. hatte sich aus Suizidgründen mit einem Seitengewehr eine schwere und tiefe Leberstichwunde mit gleichzeitiger Magenwandverletzung beigebracht. Nachdem die Leber- und Magenverletzung operativ versorgt waren, hielten wir in diesem Falle in Übereinstimmung mit Professor KLAPP eine intravenöse Dauerinfusion eines geeigneten Energetikums (E_{15}), das einen Gehalt von 20% Lävulose, 10% Dextrose, 2,5% Alkohol in Thyrodelösung hatte, für notwendig. Es wurden in 24 Stunden dem Patienten so 2816 Kalorien zugeführt. Auch hier trat als ertes Symptom eine Besserung des Kreislaufes ein. Die Blutdruckamplitude änderte sich von 100/80 auf 140/60 mm Hg und die Pulsfrequenz sank im Laufe des 1. Tages von 112 auf 70 je Minute. Am Ende des 2. Tages wurde das Sensorium klar und am 3. Tage war das Koma vollständig behoben. Unter weiterer intravenöser Dauerinfusion bis zum *5. Tage* trat eine sichtlich starke Erholung ein. Wegen der perforativen Magenverletzung wurde hier der erfolgreiche Versuch einer *intravenösen Dauerernährung*, die als *kalorisch hinreichende Notmaßnahme* betrachtet werden muß, durchgeführt. Vom 8. Tage ab bekam der Patient peroral 250 ccm E_1 je Tag und kam im Laufe der nächsten 3 Wochen zur vollständigen Heilung. In diesem Falle lag die Schwierigkeit einer peroralen Energetikumzufuhr nicht allein in dem komatösen Zustand, sondern vor allen Dingen in der perforativen Magenverletzung. Es dürfte richtig sein, in diesem Falle dem E einen entscheidenden therapeutischen Anteil bei der Behandlung der funktionellen Leberinsuffizienz zuzuschreiben. Zweifellos lag in der frühzeitigen operativen Behandlung (5 Stunden nach der Verletzung) des Patienten ein sehr günstiges Moment, das im Zusammenhang der Gesamtbeurteilung nicht vergessen werden darf. Wegen der Schwere der Verletzung war es unmöglich, in diesem Falle eine Gewichtskurve aufzustellen. Allein der dreitägige komatöse Zustand weist darauf hin, daß hier die Leberinsuffizienz besonders schwer war. Wir glauben, die Berechtigung der energetischen Betrachtung hier soweit belegt zu haben, daß auch in rein funktionellen Fällen von Leberinsuffizienz, also beim Icterus gravis und der akuten gelben Leberatrophie von geeignet zusammengesetzten Energetika Gebrauch gemacht werden kann.

Schlußbesprechung.

Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß die energetische Betrachtungsweise über die akuten Infektionen hinaus den Blick auf die chronischen Infektionskrankheiten und hier in erster Linie auf die *Tuberkulose* lenkt Da eine polypragmatische Vielgeschäftigkeit den Grundprinzipien unserer Denk- und Arbeitsweise widerspricht, haben wir diese Erkrankung bewußt wegen der wenig umfangreichen Beobachtungen von einer Besprechung ausgeschlossen. Wir möchten gerade hier von einer zu schnellen Anwendung der Energetika warnen, da sie nicht ungefährlich ist. Es bedarf die weitere Bearbeitung dieses Gebietes eines engen Kontaktes zwischen dem Kliniker und Theoretiker. Es mag genügen, in den angeführten Fällen die Möglichkeit der *therapeutischen Anwendung der Energetika* so aufgezeigt zu haben, daß eine weitere Verfolgung dieses Weges *lohnend* erscheint.

Ausgehend vom experimentell erkannten Prinzip der *Substratsteuerung* des Stoffwechsels stellt sie ein bewußt erstrebtes Ziel einer Therapie dar, die den *Stoffwechselproblemen* eine *zentrale Bedeutung* bei allen Lebensvorgängen zumißt (Schema III). Die energetische Betrachtung von Organfunktionen [1] schuf die theoretische Grundlage, von der aus die weitere Klärung der vegetativ-hormonalen Stoffwechselsteuerung am Ganztier und ihre physiologische Beeinflussung durch die Nahrungsgrundstoffe erfolgreich [8, 13] unternommen wurde. Zwangsläufig ergab sich die Notwendigkeit einer Prüfung der erkannten Prinzipien und Erkrankungen des Stoffwechsels, wobei wir das Hauptgewicht der Therapie der Schilddrüsenüberfunktion in Form des Morbus Basedow zumaßen. Wie wir oben ausgeführt haben, konnte dieser Zustand mit eindeutiger Wirkung durch Energetika angegangen werden.

Wir möchten in diesem Zusammenhang nochmals darauf hinweisen, daß hier der Versuch unternommen wurde, durch geeignete experimentelle Anlage und die folgerichtige schrittweise Analyse vom isolierten Organ über den Versuch am ganzen Tier zur Aufklärung der Wirkungsmechanismen am Menschen zu kommen. Die erste erfolgreiche Anwendung der energetischen Betrachtungsweise in der Klinik verdanken wir HEGGLIN [26], der bei einer Reihe von Krankheiten das *Syndrom* der *energetisch-dynamischen Herzinsuffizienz* und ihre Diagnostik festgelgt hat. Unter anderen fand er dieses Krankheitsbild bei schweren Leberinsuffizienzen, Infektionskrankheiten und beim Coma diabeticum. Nähere Einzelheiten finden sich in der sehr schönen Originalarbeit HEGGLINS. Wir möchten deshalb an dieser Stelle nur nochmals auf die erfolgreiche therapeutische Beeinflussung durch *Energetika*, d. h. das Prinzip der Substratsteuerung bei Leberinsuffi-

[26] HEGGLIN R.: Schweiz. med. Wschr. **1944**, 1104.

zienzen und septischen Infektionen hinweisen. Der Arbeit Hegglins kommt nach unserer Auffassung deshalb eine grundsätzliche Bedeutung zu, weil er unabhängig von der Kenntnis der in dieser Arbeit mitgeteilten Untersuchungen zu ähnlichen Auffassungen des energetischen Geschehens bei verschiedenen Krankheiten kommt wie wir. Er ging bei seinen Forschungen von der Beobachtung des kranken Menschen aus, während wir als Ausgangspunkt rein theoretisch experimentelle Untersuchungen am Tier und am gesunden Menschen nahmen. Wenn wir zu ähnlichen Endergebnissen gelangten, so erscheint mir das eine nicht zu unterschätzende Beweiskraft für die Möglichkeit einer fruchtbaren Zusammenarbeit zwischen Kliniker und Theoretiker zu haben, aus der sich greifbare praktisch therapeutische Erfolge ergeben, die auch unabhängig von der theoretischen Anschauung ihren Wert haben.

Wenn ich trotz aller widrigen Zeitumstände die vorliegenden Untersuchungen durchführen konnte, so danke ich dies nicht zum wenigsten W. Straub. Er hat, so lange ihm dies möglich war, mit großem Interesse und Verständnis ihr Werden verfolgt und mich zu ihrer Durchführung ermutigt.

Die Untersuchungen bei septischen Infektionen, traumatischen Leberinsuffizienzen, adynamischen Zuständen u. a. dürfen nun nicht zu der Auffassung einer omnipotenten Energetikumanwendung und einer einfachen Anwendungsart führen. So sicher der Erfolg in der Applikation der energetischen Betrachtungsweise bei den Zentralproblemen des Stoffwechsels am gesunden und kranken Menschen liegt, so wenig gibt es *ein* Energetikum und *eine Anwendungsart*. Die theoretisch mögliche Zahl der einzelnen Energetikumgemische ist weit größer als die der in Untersuchungen bisher erprobten. Dasselbe gilt von der zeitlichen und quantitativen Zufuhr, bzw. ihrer peroralen oder parenteralen Zufuhrart. Es gehört neben der Vorstellung der pathologisch-physiologischen Situation im einzelnen Krankheitsfalle eine gründliche Kenntnis der Steuerungsfunktionen des vegetativ-hormonalen Systems und der Substratsteuerung dazu, um geeignet zusammengesetzte Energetika mit richtiger Zeiteinteilung therapeutisch wirksam zuzuführen. Durch planlose Anwendung können leicht sehr gefährliche Steuerungsstörungen am Stoffwechsel und anderen vegetativen Organfunktionen herbeigeführt werden, wovor gar nicht *dringend genug gewarnt werden kann*. So kann z. B. bei akuten Infektionen durch eine Steigerung der Sympathikotonie durch zu große Energetikumeinzeldosen in kurzer Aufeinanderfolge sehr leicht eine Zustandsverschlimmerung eintreten.

Es scheint uns wichtig, hier die Dosierungsfrage kurz zu beleuchten. Wie wir an anderer Stelle [13] gezeigt haben, finden die *vegetativ-hormonalen Stoffwechselsteuerungen in der periodischen Tagesrhythmik* der

Organfunktionen ihren Ausdruck. Andererseits verhindert die pathologische Fixation einer Stoffwechselphase den normalen Ablauf dieser Perioden. So kann z. B. eine fixierte Sympathikotonie den Eintritt der zum Schlaf notwendigen Vagotonie soweit aufhalten, daß eine Schlaflosigkeit resultiert. Wenn wir also vegetativ steuernde Substrate zuführen, müssen wir bestrebt sein, die pathologisch fixierte Situation zu durchbrechen und sie mit der normalen Periodik des Tagesrhythmenablaufes in Einklang zu bringen. In der Therapie ist dieses Prinzip unbewußt schon immer angestrebt worden. Das Koffein des morgendlichen Kaffees ist mit seiner sympathikotonen Wirkung die rechte Einleitung des leistungssteigernden Wachzustandes. Dieses Beispiel aus dem täglichen Leben weist uns auf die nahe Verknüpfung der Diätetik mit den hier erörterten Fragen hin. Es kommt also darauf an, die Energetika nach einem genauen Plan, der die erstrebten Schwerpunkte ihrer Wirkung zum Grunde hat, zu dosieren, und die Zufuhr anpassend zu korrigieren. Es ist einleuchtend, daß die jeweilige Zusammensetzung, also die Art des zu verwendeten *E* dem gleichen Verfahren unterliegt.

Endlich möchten wir hier noch eine theoretische Erörterung der hypothetischen Anwendungsmöglichkeit eines geeigneten *E* bei der Störung des Kohlehydratstoffwechsels, des Diabetes mellitus, anschließen. Wir denken hier besonders an die bereits als günstig erkannte *Alkoholwirkung* beim Diabetes und demnächst an die Lävulose mit ihrem relativ kleinen Insulinäquivalent. Nach unseren obigen Überlegungen verläuft die Alkoholverbrennung (nach 6 und 7) über den Azetaldehyd und die Essigsäure. Die korrelative Steuerung der Alkoholverbrennung (Schema III) drängt die Zuckerverbrennung zurück (Schema I), wirkt also einsparend am Kohlehydratstoffwechsel, der ja seine wesentliche Steuerung durch das Insulin erfährt. Bietet man nun außerdem dem diabetischen Organismus einen wesentlichen Teil seines Bedarfs in Form der *Lävulose* mit dem *kleinen Insulinäquivalent* dar, so erhöht man diese Sparwirkung des Alkohols und müßte auf diese Weise eine brauchbare Entlastung der innersekretorischen Pankreasfunktion erzielen können. Eine weitere Möglichkeit liegt in der Verknüpfung (von [2], [3] und [4] und Schema II) der Ketonkörperbildung bzw. Verbrennung mit der Alkoholverbrennung, die damit zu einer antiketogenen Funktion werden könnte. Es scheint uns immerhin lohnend, auch dieser Problemstellung nachzugehen, die theoretisch wichtig ist und praktisch bedeutungsvoll werden kann.

Bei einer so jungen Experimentalwissenschaft wie der Biologie können die Grundlagen zu *theoretisch-biologischen Überlegungen* nur eng begrenzt sein. Ihre heuristische Bedeutung wird hierdurch nicht eingeschränkt, denn häufig genug bilden sie den Leitweg für die

experimentell-biologische Anlage unserer Untersuchungen. Wir dürfen die Hilfe theoretisch-biologischer Überlegungen zur Klärung rein empirisch gewonnener Erkenntnisse nicht unterschätzen. Dieser ihr kritisch sichtender Einfluß gestattet uns die Untersuchungs- und Beobachtungsergebnisse anderer Gelehrter verstehend im Sinne einer Grundlagenerweiterung zu verwerten, die der eigenen Arbeit überhaupt erst ihren Sinn verleiht. Ein ganz besonderes Gewicht kommt in diesem Zusammenhang den zahlreichen Untersuchungen und theoretischen Erörterungen von W. R. Hess und seinen Schülern zu, aus denen sich die inneren Zusammenhänge der vegetativ hormonalen Steuerung ergeben. W. R. Hess hat meines Wissens mit als einer der ersten auf das Wesen und die Bedeutung dieser Steuerungsvorgänge für die Energetik hingewiesen.

Zusammenfassung.

1. Die Kongruenz der Kohlehydratverwertung bei Mensch und Tier wurde experimentell geprüft.

2. Die *Substratsteuerung* von Gemischen aus Monosacchariden, Aminosäuren und Alkohol, die allgemein als *Energetika* bezeichnet werden, ist abhängig von der zeitlichen und quantitativen Zufuhr.

3. Der *Äthylalkohol* wird in weiten Grenzen bei der Energetikumzufuhr *vollkommen* im Feuer der Kohlehydrate verbrannt.

4. Durch die Ausschaltung der narkotischen Alkoholnebenwirkung wird der Alkohol zu einem wertvollen Brennstoff und Pharmakon erhoben, dessen *„korrelativer Steuerwert"* auf den Eiweiß-, Kohlehydrat- und Fettansatz hierdurch erhöhte Bedeutung gewinnt.

5. Der *hohe Gesamtsteuerwert* der *Energetika* geht aus der *eindeutig erfolgreichen Beseitigung* der *Stoffwechselsteuerungsstörungen* bei schwersten Fällen von *Morbus Basedow* hervor.

6. Die weitere therapeutische Energetikumwirkung bei septischen Infektionen, Leberinsuffizienz u. a. wird aufgezeigt.

7. Der Substratsteuerwert der Energetika übertrifft zumeist ihren kalorischen Äquivalenzwert.

8. Die Energetika eröffnen neue Wege der Therapie über die Stoffwechselsteuerwirkung und korrelative Beeinflussung vegetativ-hormonaler Organfunktionen.

9. Die Energetika ermöglichen bei intravenöser Dauerzufuhr eine kalorisch hinreichende kurzzeitige Noternährung.

Der Firma C. H. Boehringer-Sohn, Ingelheim, sind wir für ihre Hilfe bei der Entwicklung der Energetika zu großem Dank verpflichtet.

Aus der I. Medizinischen Klinik (Direktor: Prof. Dr. H. H. Berg) der Universität Hamburg und dem Physiologisch-Chemischen Laboratorium von Prof. Dr. O. Schumm, Hamburg.

Über den Porphyringehalt des Blutes bei Krankheiten und nach Zufuhr von Hämatoporphyrin-Nencki oder Protoporphyrin.

Von

Prof. Dr. **O. Schumm** und Dozent Dr. med habil. **F. Beckermann.**
Oberarzt der Klinik (unter Mitwirkung von **G. Knop**).

(Eingegangen am 27. Mai 1947.)

In einer ausführlichen Abhandlung[1] hat der eine von uns vor mehreren Jahren unsere damaligen Kenntnisse vom Vorkommen von Porphyrinen im menschlichen Blute zusammenfassend dargestellt und gleichzeitig ein besonderes (spektro-chemisches) Untersuchungsverfahren beschrieben, das sowohl die sichere Erfassung des nur sehr geringen normalen Porphyringehaltes als auch die genauere Ermittlung etwaiger Abweichungen ermöglicht. Gegenüber der für quantitative Bestimmungen des Blut-Porphyringehaltes von anderen Untersuchern angewandten fluoreskopischen Methode[2] bietet das spektrographische Verfahren den Vorteil größerer Objektivität und der dauerhaften Festlegung jedes Einzelbefundes durch das erzielte Spektro-Photogramm[3]. Dazu kommt, daß dessen *qualitative* Auswertung Anhaltspunkte für die Erkennung der Art des vorhandenen Porphyrins liefert*.

Die spektrochemische Grundlage dieses Verfahrens besteht in der seit langem bekannten Tatsache, daß sehr schwache, fast farblose salzsaure Porphyrinlösungen im Grenzgebiet von sichtbarem und unsichtbarem Violett eine starke Lichtabsorption verursachen, die sich bei der photographischen Aufnahme unter geeigneten Versuchsbedingungen als scharf abgegrenzte Absorptionsbande darbietet. Für klinische Zwecke ist ein derartiges spektrographisches Untersuchungsverfahren erstmalig von O. Schumm bei der Untersuchung des Blutes von Porphyriefällen verwertet worden, wobei einwandfrei nachgewiesen werden konnte, daß bei „kongenitaler Hämatoporphyrie" (sog. Günther'scher Krankheit) der vermutete Gehalt des Blutes an einem besonderen körpereigenen Porphyrin in der Tat vorhanden war[4]. Die Konzentration des Serums an Porphyrin erreichte bei einem Falle dieser Krankheit als Höchstwert ungefähr 1 mg-% (= 1000 γ-%).

In einer erweiterten Ausführungsform eignet sich das von O. Schumm angegebene Verfahren zu der gesonderten Bestimmung des Gehaltes an Protoporphyrin und Hämatoporphyrin-Nencki, dessen Kreisen im Blute nach intramuskulärer Zufuhr von Hämatoporphyrin nachgewiesen und in einer Anzahl von Fällen auch quantitativ verfolgt werden konnte[5].

* Vgl. die der früheren Abhandlung beigefügten Tafeln der Spektrogramme.

Die besonderen, bei der Durchführung des genannten Verfahrens erforderlichen Vorsichtsmaßregeln, die bei dem eigenartigen chemischen und physikalischen Verhalten der hier in Betracht kommenden sehr schwachen Porphyrinlösungen streng beachtet werden müssen, sind bereits in allen Einzelheiten genau beschrieben worden. Dieserhalb und bezüglich der Erkennungsmerkmale der verschiedenen im Blute aufgefundenen Porphyrine sei auf die frühere Mitteilung [1] verwiesen, die auch eine Beschreibung der erforderlichen spektrographischen Einrichtung enthält.

Wir haben uns die Aufgabe gestellt, auf der Grundlage des von uns beschriebenen, die erforderliche Zuverlässigkeit gewährleistenden Untersuchungsverfahrens zunächst bei einer Anzahl häufiger vorkommender Krankheiten die Höhe des Porphyringehaltes zu ermitteln, um aus etwaigen auffälligen Abweichungen Schlüsse auf die näheren Zusammenhänge zwischen Porphyringehalt und bestimmten Krankheitserscheinungen ziehen zu können. Zweitens sollte, wo die Gelegenheit gegeben war, der etwaige Einfluß der Zufuhr von Protoporphyrin und weiterhin der von bestimmten therapeutischen Maßnahmen auf die Höhe des Protoporphyringehaltes des Blutes geprüft werden.

Vor Inangriffnahme der von uns geplanten umfangreicheren Untersuchungen über den Porphyringehalt des Blutes *Kranker* haben wir das Blut Gesunder geprüft. Bei 7 Männern (Blutspendern) betrug der Protoporphyringehalt 10—17, im Mittel 13 γ-%. Bei einem dieser Fälle ergab die innerhalb von 3 Wochen 3mal vorgenommene Untersuchung 11, 12 und 11 γ-%, woraus jedenfalls bei diesem Falle auf eine große Stetigkeit des Gehaltes geschlossen werden kann. Ungefähr den gleichen Gehalt fanden wir am Blut zweier gesunder, nicht schwangerer Frauen (Mittelwert 10,5 γ-%) und dem von gesunden Schwangeren (9. Monat, nahe vor der Geburt). Er betrug in 4 Fällen 7,5—13,5 γ-%, im Mittel 11,3 γ-%. Bei 7 weiteren Frauen mit auch im übrigen normalem Blutbefund fanden wir einen Gehalt von 9,1—13,3 γ-%, im Durchschnitt 11 γ-%. Nahe übereinstimmend fanden wir den Protoporphyringehalt im Blute einer Anzahl geisteskranker Frauen; er betrug 9,4—19 γ-%, im Mittel 15 γ-%. Auf Grund unserer, an den erwähnten Gesunden ausgeführten Untersuchungen sehen wir einen Protoporphyringehalt bis zur Höhe von etwa 20 γ-% als normal an und bezeichnen Werte, die erheblich über 20 γ-% hinausgehen (bis hinauf zu etwa 35 γ-%), als schwach erhöht, solche, die erheblich oberhalb 35 γ-% liegen, als stark erhöht. Bei der Beurteilung richten wir uns nach dem Verhältnis des Porphyringehalts zum Erythrozytengehalt; z. B. wird ein Porphyringehalt von etwa *20 γ-% bei einem Erythrozytengehalt von nur 3,5 Mill.* von uns als schwach vermehrt bezeichnet. Schwankungen des Protoporphyringehaltes, die auf Unterschiede in der Ernährung bezogen

werden könnten, haben wir innerhalb kürzerer Beobachtungszeiten bei ausreichender Nahrungszufuhr bislang nicht gefunden. Erwähnung verdient, daß bei einem Gesunden (Blutspender) reichliche Aufnahme von Blutwurst, somit von viel Hämatin, während mehrerer Tage keine Erhöhung des Protoporphyringehaltes im Blut bewirkte.

Bei einer kleineren Anzahl von Krankheitsfällen ist unser Untersuchungsverfahren schon von H. Backs mit gutem Erfolge angewandt worden[6]. Backs hat den Porphyringehalt durchweg noch unmittelbar aus dem Vollblut ausgezogen und nur vereinzelt eine gesonderte Untersuchung von Blutkörperchen und Serum vorgenommen.

Um den Überblick zu erleichtern, geben wir in den folgenden Zusammenstellungen neben den tatsächlich gefundenen prozentischen Werten jeweils denjenigen an, der sich aus der Umrechnung auf einen Erythrozytengehalt von 5 Mill. ergibt.

Protoporphyringehalt des Blutes nach Zufuhr von Protoporphyrin.

In einer Anzahl von Fällen haben wir prüfen können, ob orale oder intramuskuläre Zufuhr von Protoporphyrin den Gehalt des Blutes verändert. Auf *oralem* Wege erhielten 2 Diabetiker 3mal täglich je 30 Tropfen einer 0,2%igen schwach alkalischen Protoporphyrinlösung. Im ersten Falle wurde das Protoporphyrin 12, im zweiten Falle 5 Tage lang gegeben, so daß insgesamt etwa 0,14 g bzw. 0,06 g aufgenommen wurden. Bei dem ersten Falle betrug der Protoporphyringehalt des Blutes vor der Aufnahme von Protoporphyrin 11,4 γ-%, nach 5tägiger Behandlung mit Protoporphyrin 11,5 γ-% und nach 12tägiger Behandlung 11,4 γ-%. Bei dem zweiten Falle vor der Behandlung 7,5 γ-%. nach 5tägiger Behandlung mit Protoporphyrin 8,3 γ-%. Danach hat die orale Protoporphyrinbehandlung in diesen Fällen keine nachweisbare Steigerung des Blutporphyringehaltes bewirkt; denn derartige und noch stärkere Schwankungen im Protoporphyringehalt werden schon bei Gesunden beobachtet. — Bei 9 Kranken, darunter 7 Magenkranken, verblieb der Protoporphyringehalt des Blutes auch bei *intramuskulärer* Zufuhr innerhalb der normalen Grenzwerte (vgl. Tabelle 1). Das Protoporphyrin wurde in 0,1%iger sehr schwach alkalischer Lösung, und zwar in einer täglichen Menge von 3—10 mg gegeben. Im Höchstfalle wurden innerhalb von etwa 3 Wochen allmählich 50 mg Protoporphyrin injiziert. Für eine etwaige Umwandlung des Protoporphyrins in Hämatoporphyrin bot sich keinerlei Anhaltspunkt. Ein Übergang von Protoporphyrin in den Harn ließ sich unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen ebenfalls nicht nachweisen*.

* Bekanntlich findet sich Protoporphyrin in kleinen, übrigens wechselnden Mengen schon unter normalen Verhältnissen, namentlich bei gemischter Kost, ferner in oft vermehrter Menge als Produkt der bakteriellen Zersetzung endogenen Blutfarbstoffes in den Fäzes, ein Befund, der unter Umständen diagnostisch

Tabelle 1.

Fall	Diagnose	Protoporphyrin injiziert mg	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Ku.	Asthma bronch.	—	82	4,5	10,5	11,5
		6	82	4,5	11,0	12,0
2. Wa.	Gaumensegellähmung nach Diphtherie	—	74	3,9	10,5	13,5
	5 Tage später	3	82	4,2	9,0	10,5
	7 Tage später nach Injektion von	5	82	4,0	12,5	15,5
3. Lü.	Gärungsdyspepsie (nach Eleudron)	—	86	4,8	13,5	14,0
		3	82	4,4	15,0	17,0
		5	82	4,5	15,0	16,5
4. Mü.	Gastritis	—	86	4,9	8,5	8,5
		6	82	—	10,0	—
5. Gr.	Ulcus duodeni	—	92	4,7	17,0	18,0
		16	90	4,6	20,0	21,5
	insgesamt	24	86	4,6	16,5	18,0
6. Lu.	Ulcus ventr. und duodeni	—	95	4,9	18,0	18,0
		30	90	—	16,0	—
	insgesamt	50	86	—	16,0	—
7. Je.	Gastritis	—	86	4,4	16,5	18,5
		16	88	4,5	16,0	17,5
	insgesamt	24	86	4,6	16,5	17,5
8. Ra.	Ulcus ventr., Gastritis	—	90	4,5	11,5	13,0
		30	90	—	11,5	—
	insgesamt	50	88	4,5	12,5	14,0
9. To.	Ulcus duodeni	—	84	4,4	14,0	16,0
	10 Tage später	25	80	4,2	11,5	13,5

Diese Beobachtungen veranschaulichen das weitgehend verschiedene Verhalten von Protoporphyrin und Hämatoporphyrin, das bekanntlich bei intramuskulärer Anwendung regelmäßig in das Blut übergeht (Konzentration etwa 10—18 γ-%, vgl. S. 111) und dementsprechend dann auch im Harn nachgewiesen werden kann*.

verwertet werden kann. Ein Übergang von Protoporphyrin in den Harn ist unter den genannten Bedingungen trotz zahlreicher darauf gerichteter Untersuchungen in O. Schumms Laboratorium bislang nicht beobachtet worden. Vgl. hierzu O. Schumm, Spektrochemische Analyse (Jena: Gustav Fischer 1927), ferner Chemie der Erythrozyten und des Hämoglobins im Handbuch der allgemeinen Hämatologie, Bd. 1 (Berlin: Urban & Schwarzenberg). — Wegen des Porphyringehaltes von käuflichem Nahrungsfleisch vergleiche man O. Schumm, Z. physiol. Chem. **133**, 308 (1924).

* Bezüglich der Ausscheidungsverhältnisse *intravenös* injizierten Hämatoporphyrins vergleiche man die von Jakob beschriebenen Tierversuche „Über das biologische Verhalten von Protoporphyrin, Hämatoporphyrin und Koproporphyrin (= Deuteroporphyrin)". Arch. exper. Path. (D.) **189**, 272 (1938).

Im folgenden berichten wir über die bisher von uns untersuchten Krankheitsgruppen.

1. Lungenkrankheiten (Tabelle 2 und 3).

a) Tuberkulose. Unter 12 Fällen beobachteten wir nur in 5 Fällen ganz normale Werte; in den übrigen 7 Fällen lag der Protoporphyringehalt entweder an der oberen Grenze des Normalen oder war (Fall 6 und 7) deutlich bis stark (Fall 9, 10 und 12) erhöht, vgl. die Tabelle 2:

Tabelle 2.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus den gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Hei.	Lungentuberkulose	80	4,04	8,0	10,0
2. F.	Lungentuberkulose	80	4,8	10,0	10,5
3. Be.	Lungentuberkulose	87	4,2	10,0	12,0
4. St.	Lungenbluten	76	4,0	16,0	20,0
5. Bü.	Kavernöse und exsudative Lungentuberkulose	76	4,1	16,0	19,5
6. En.	Doppelseitige offene kavernöse exsudative Lungentuberkulose	95	4,8	25,0	26,0
7. Wei.	Doppelseitige offene kavernöse exsudative Lungentuberkulose	68	3,24	16,0	24,5
8. Gr.	Doppelseitige offene kavernöse exsudative Lungentuberkulose	90	4,52	14,0	15,5
9. Hei.	Doppelseitige kavernöse Lungentuberkulose	85	4,3	38,0	44,0
10. Kr.	Doppelseitige kavernöse Lungentuberkulose	85	4,86	67,0	69,0
11. Ku.	Verbreiterte Lungen- und Kehlkopftuberkulose	87	4,58	14,0	15,5
12. Lü.	Lungen-, Knochen- und Nierentuberkulose	54	3,6	26,0	36,0

Tabelle 3.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Wi.	Pneumonie	96	4,4	17,0	19,0
2. Si.	Pneumonie	82	5,6	11,0	10,0
3. Mo.	Pneumonie (Eleudron)	90	4,5	12,0	13,0
4. Ko.	Pneumonie (Eleudron)	84	4,2	11,0	13,0
5. Ga.	Pneumonie (Eubasin)	85	4,9	11,0	11,0
6. Ku.	Pneumonie (Eubasin)	91	4,8	9,0	9,0
7. Be.	Pneumonie (Eubasin)	96	5,0	8,0	8,0
8. Ha.	Pneumonie (Eubasin)	88	4,5	9,0	10,0
9. Sche.	Pneumonie (Eubasin)	98	5 1	12,0	12,0
10. Bi.	Pneumonie (Eubasin)	82	4,0	16,0	20,0
11. Sö.	Pneumonie (Eubasin)	85	3,8	13,0	17,0

b) Pneumonie. Im Gegensatz zu den Tuberkulosefällen war der Protoporphyringehalt bei der Mehrzahl der Pneumoniefälle ganz normal. Nur bei 2 von 11 Fällen lag er an der oberen Grenze des Normalen. Beachtlich erscheint hierbei außerdem, daß unter 6 mit Eubasin und 2 mit Eleudron behandelten Fällen nur einmal ein an der oberen Grenze des Normalen liegender, in keinem Falle dagegen ein ausgesprochen erhöhter Wert beobachtet wurde. Ferner sei hervorgehoben, daß das Blutserum der mit Eubasin behandelten Pneumoniefälle keinerlei Zeichen einer toxischen Einwirkung erkennen ließ, indem weder Hämatin noch Methämoglobin oder Verdohämochromogen nachgewiesen werden konnte.

2. Herz- und Gefäßerkrankungen (Tabelle 4).

Unter 25 Fällen lag der Protoporphyringehalt bei 4 Fällen an der oberen Grenze des Normalen, nur 3 Fälle hatten leicht erhöhte Werte.

Tabelle 4.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Le.	Aorteninsuffizienz	90	5,2	9,0	9,0
2. Ma.	Aortenvitium	95	3,7	6,0	8,0
3. St.	Aorteninsuffizienz	78	4,0	12,5	15,5
4. Ra.	Koronarinsuffizienz	103	5,9	5,0	4,0
5. Schl.	Benigne Sklerose	104	5,2	24,0	23,0
6. Ha.	Maligne Sklerose	88	4,6	15,5	17,0
7. Gö.	Decompensatio, Hypert.	65	3,3	16,0	24,0
8. Ho.	Mitralinsuffizienz und Stenose	86	4,3	13,5	16,0
9. Ke.	Herzdekompensation, Mitralstenose	69	3,5	10,0	14,0
10. Be.	Myodegeneratio cordio, Decompensatio	98	5,6	17,0	15,0
11. Schw.	Myodegeneratio cordis und Herzinsuffizienz	82	4,2	11,5	14,0
12. Dö.	Hypertonie	85	4,8	10,5	11,0
13. Me.	Hypertonie	84	4,3	15,0	17,0
14. Kr.	Hypertonie	88	4,6	6,0	7,0
15. Wi.	Hypertonie	96	4,4	16,5	19,0
16. Re.	Hypertonie	80	4,0	12,5	16,0
17. Ro.	Hypertonie, Arteriosklerose	65	4,0	16,0	20,0
18. Ha.	Koronarsklerose	90	4,7	10,0	11,0
19. Rei.	Herzinsuffizienz	80	4,1	12,5	15,0
20. Zi.	Herzinsuffizienz	90	6,9	16,0	12,0
21. Ze.	Herzinsuffizienz	85	5,5	8,5	8,0
22. Neu.	Herzinsuffizienz	105	6,5	8,5	7,0
23. Ca.	Herzinsuffizienz	80	4,3	10,0	12,0
24. Ro.	Herzinsuffizienz	92	4,9	*26,5*	27,0
24a. Ro.	Herzinsuffizienz*	88	4,8	*33,0*	34,0
25. v. Ri.	Herzinsuffizienz	56	3,0	6,0	10,0
25a. v. Ri.	Herzinsuffizienz*	50	2,8	*11,0*	20,0

* Die beiden Fälle „Ro." und „v. Ri." sind nach m hrwöchiger klinischer Behandlung zum zweiten Male untersucht worden. Bei „v. Ri." hatte der Gehalt stark zugenommen.

Tabelle 5.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. v. St.	Gastritis	95	5,0	10,0	10,0
2. Je.	Gastritis	86	4,4	16,5	18,5
3. Mü.	Gastritis	86	4,9	8,5	8,5
4. Ei.	Gastritis	104	4,9	10,0	10,0
4a. Ei.	nach 2wöchiger Behandlung	—	—	8,0	—
5. Ca.	Akute Gastritis	100	5,6	7,0	6,0
6. Kn.	Ulcus ventriculi	92	5,0	15,0	15,0
7. Pa.	Ulcus ventriculi	94	4,8	12,0	12,5
8. Kr.	Ulcus ventriculi	88	4,6	6,0	6,5
8a. Kr.	nach 2wöchiger Behandlung	—	—	8,0	—
9. Deu.	Ulcus ventriculi	70	5,4	24,5	22,5
10. Wi.	Ulcus ventriculi	85	4,5	24,0	26,5
11. Lu.	Ulcus ventriculi und duodeni	95	4,9	18,0	18,0
12. Ra.	Operation Ulcus ventriculi, Gastritis	90	4,5	11,5	13,0
13. To.	Ulcus duodeni	84	4,4	14,0	16,0
14. Al.	Ulcus duodeni	88	4,7	23,0	24,5
15. Gr.	Ulcus duodeni	92	4,7	17,5	18,5
16. Scho.	Ulcus duodeni	97	5,0	8,5	8,5
16a. Scho.	nach 1wöchiger Behandlung	—	—	6,5	—
17. St.	Magenkarzinom	56	3,8	22,0	29,0
18. Mö.	Magenkarzinom	95	5,4	24,0	22,0
19. U.	Colitis ulcerosa	81	4,1	14,5	17,5

3. Magen- und Darmkrankheiten (Tabelle 5).

Unter 11 Fällen von Ulcus (ventr. bzw. duod.) besteht in 3 Fällen ein schwach erhöhter Protoporphyringehalt (Fall 9, 10, 14). Die beiden Karzinomfälle haben ebenfalls schwach erhöhte Werte. Bei allen Gastritisfällen sind die Werte normal. Das Gleiche gilt für den Fall von Gärungsdyspepsie und von Colitis ulcerosa.

4. Leberkrankheiten (Tabelle 6).

Unter 15 Fällen von Ikterus und Cholelithiasis finden sich bei 2 Ikterusfällen schwach erhöhte Werte; bei 2 weiteren Fällen liegt der Protoporphyringehalt an der oberen Grenze des Normalen. Von 2 Fällen von Zirrhose hat der eine einen ausgesprochen erhöhten Gehalt. Das gleiche gilt für den einen Fall von Karzinom, während ein weiterer Fall von Lebertumor einen schwach erhöhten Gehalt aufweist. Je 1 Fall von Hepatitis epidemica und von Lebermetastasen bei Myomen zeigen normale Werte. Dagegen besteht bei einem Falle von Leberschädigung bei Pilzerkrankung der Lunge ein deutlich erhöhter Gehalt.

Besondere Erwähnung verdient ein während einer Seereise aufgetretener Fall von schwerem „Ikterus", der nach der Aufnahme in unser Krankenhaus keine Fiebererscheinungen, dagegen Zeichen einer

Tabelle 6.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Wo.	Ikterus	85	4,4	28,5	32,0
2. Me.	Ikterus	95	5,6	11,0	10,0
3. Bo.	Ikterus	85	4,5	9,7	11,0
4. Sa.	Ikterus	92	4,7	21,5	24,0
5. Fl.	Ikterus	91	5,0	10,5	10,5
6. Kö.	Ikterus	90	4,7	10,0	10,5
7. Fi.	Ikterus	86	4,4	15,0	17,0
8. Gr.	Ikterus	70	3,6	22,0	30,5
9. Sei.	Ikterus	88	4,8	19,5	20,0
10. Ei.	Ikterus, Gastritis	104	4,9	10,0	10,0
11. Ni.	Ikterus, Cholezystitis	83	4,1	15,0	18,5
12. Ha.	Cholelithiasis, Choledochusverschluß	88	4,6	10,5	11,0
13. De.	Cholelithiasis	65	3,6	6,0	8,5
14. Pe.	Cholelithiasis	86	4,4	12,5	14,0
15. A.	Cholelithiasis	103	5,0	9,0	9,0
16. We.	Leberzirrhose	83	4,2	8,5	10,0
17. Zi.	Leberzirrhose	37	3,0	22,0	36,5
17a. Zi.	nach 2wöchiger Behandlung	42	2,8	18,0	32,0
18. Schm.	Leberkarzinom	52	3,6	28,5	39,5
19. Mü.	Lebertumor	85	4,2	22,0	26,0
19a. Mü.	nach 4wöchiger Behandlung	84	4,3	20,0	23,0
20. Schw.	Hepatitis epidemica	82	4,1	13,5	16,5
21. Scha.	Lebermetastasen bei Myomen	76	3,8	13,5	17,5
22. Du.	Leberschädigung bei Pilzerkrankung der Lunge	60	3,5	20,5	29,0

starken toxischen Anämie mit ausgesprochenem Hämatinikterus aufwies *. Der eigenartigen Hautveränderung entsprechend bestand hochgradige Hämatinämie (braungelbe Farbe des Serums, Hämatingehalt nach SCHUMM „Ht 20"). Der anfangs zu 23 γ-% bestimmte Protoporphyringehalt ging gleichlaufend mit der Besserung des Krankheitszustandes zurück, nach einigen Tagen betrug er noch 19 γ-%, nach weiteren 12 Tagen 12 γ-% und nach weiteren 7 Tagen nur noch 10 γ-%. Der gleichzeitig bestimmte Hämatingehalt des Serums fiel auf „Ht 16", dann auf „Ht 10" und verschwand bald darauf. Dabei war der zunächst stark erniedrigt gewesene Hämoglobingehalt zuletzt wieder bis auf 87% gestiegen.

5. Nierenkrankheiten (Tabelle 7).

Von 6 Fällen hatten 2 normalen Protoporphyringehalt; in 3 Fällen bestand ein schwach, in einem ein stark erhöhter Gehalt (Mittelwert bei 3 innerhalb 6 Wochen vorgenommener Blutentnahmen 86 γ-%).

* Bezüglich des Hämatinikterus vergleiche man O. SCHUMM, Z. physiol. Chem. **97**, 50 (1916),; H. SCHMIDT, Münch. med. Wschr. **1929**, Nr. 27,1129; L. HEILMEYER, Blutkrankheiten, in v. BERGMANN, STAEHELIN u. SALLES Handbuch der inneren Medizin, S. 52 u. 157. (Berlin: Springer 1942).

Tabelle 7.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. v. R.	Glomerulosklerose	33	3,0	8,5	14,0
2. Schl.	Glomerulonephritis	104	5,4	24,0	22,0
3. Du.	Abklingende Glomerulonephritis	89	4,8	50,5	52,5
3a. Du.	nach 1 Woche	—	—	97,0 Mittelwert:	—
3b. Du.	nach 6 Wochen	—	—	110,0 86%	—
4. Wi.	Schrumpfniere	65	3,4	16,0	23,5
5. Th.	Schrumpfniere	82	4,1	7,5	8,0
5a. Th.	nach 10tägiger klinischer Behdl.	90	4,7	8,5	9,0
6. Gö.	Dekomp., Hypertonie bei renalem Prozeß	65	3,3	16,0	24,0

6. *Diabetes mellitus* (Tabelle 8 und 9).

Bei 14 untersuchten Diabetesfällen fand sich in keinem ein erhöhter Wert. Mehrere Fälle zeigten sogar besonders niedrige Werte.

Einige Diabetiker wurden *oral* mit Hämatoporphyrin (in Form von Photodyn, Präparat der Nordmark-Werke, Hamburg) behandelt; der Protoporphyringehalt erfuhr danach keine Zunahme. In Bestätigung unserer früheren Befunde* konnte auch bei diesen Fällen im Blute Hämatoporphyrin nicht nachgewiesen werden. Bei 2 weiteren Fällen, die *oral* mit *Protoporphyrinlösung* behandelt wurden, konnte keine Zunahme des Blutporphyringehaltes festgestellt werden.

Tabelle 8.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Bu.	Diabetes mellitus	94	4,8	10,0	10,5
2. Si.	Diabetes mellitus	86	4,4	11,5	13,0
3. Se.	Diabetes mellitus	104	5,2	12,0	11,5
4. Kr.	Diabetes mellitus	104	5,3	9,0	8,5
4a. Kr.	Diabetes nach 4 Monaten	100	5,6	11,5	10,0
5. Neu.	Diabetes mellitus	105	6,5	8,5	6,5
6. Ha.	Diabetes mellitus	96	4,9	14,0	14,0
7. Kr.	Diabetes mellitus	92	4,8	16,0	16,5
8. Schl.	Diabetes mellitus	74	4,5	6,0	6,5
9. La.	Diabetes mellitus	90	4,5	4,0	4,5
10. Vi.	Diabetes mellitus	98	4,9	7,0	7,0
11. Fi.	Diabetes mellitus	96	4,8	8,0	8,5
12. Pa.	Diabetes mellitus	106	5,3	6,0	5,5
13. Si.	Diabetes mellitus	86	4,3	5,0	6,0
14. Bo.	Diabetes mellitus	85	4,3	7,5	8,5

* Schumm, O.: Z. exper. Med. **106**, 265 (1939).

Tabelle 9. *Mit Hämatoporphyrin* oder Protoporphyrin behandelte Diabetesfälle.*

Fall	Behandlung	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Pa.	—	106	5,3	6,0	5,5
1a. Pa.	nach 14tägiger Behandlung mit Photodyn *(oral)*	—	—	10,0	—
2. Go.	Photodyn oral	95	5,5	16,0	14,5
3. Ga.	Photodyn oral	90	4,6	8,5	9,0
4. Ra.	Photodyn oral	92	5,2	16,0	15,5
5. Kr.	—	100	5,0	11,5	11,5
5a. Kr.	nach 5tägiger Behandlung mit Protoporphyrin (3×tägl. 30 Tr.=12 mg)	92	4,9	11,5	11,5
5b. Kr.	nach 1 Woche weiterer gleicher Behandlung	94	4,8	11,0	11,5
6. Bo.	—	85	4,3	7,5	8,5
6a. Bo.	nach 7tägiger Behandlung (3 × tägl. 30 Tr. Protoporphyrin *oral* = 12 mg	92	4,7	8,5	9,0

7. *Krebskrankheit* (Tabelle 10 und 11).

Unter den untersuchten Fällen befinden sich mehrere mit schwach, ein Fall mit stark erhöhtem Protoporphyringehalt. Auffallend ist hierbei, daß *dieser hohe Protoporphyringehalt neben einem normalen Hämoglobingehalt und einem nur wenig verminderten Erythrozytengehalt besteht.* — Nur in einem Falle übersteigt der Porphyringehalt *nicht* die obere Grenze des Normalen.

Vermehrten Protoporphyringehalt weisen auch 2 von 5 anderen Karzinomfällen auf, die von Herrn Dr. Guhr (Allg. Krankenhaus Hamburg-Barmbeck) eine Zeitlang mit Hämatoporphyrin behandelt waren. Das Hämatoporphyrin war in Form des Präparates „Photodyn" *intramuskulär* (vgl. S. 100) gegeben worden.

Tabelle 10.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. St.	Karzinom-Metastasen	70	3,9	14,0	18,0
2. Mü.	Lebertumor mit Metastasen	85	4,2	22,0	26,0
3. Sch.	Leberkarzinom	52	3,6	28,5	39,5
4. Stu.	Magenkarzinom	56	3,8	22,0	29,0
5. Ha.	Karzinom-Metastasen	90	4,4	57,5	63,0
6. Mö.	Magenkarzinom	95	5,4	24,0	22,0

* Für unsere Untersuchungen benutzten wir ein uns von den Nordmarkwerken, Hamburg, unter dem Namen Photodyn zur Verfügung gestelltes Hämatoporphyrinpräparat, das sich bei der von uns vorgenommenen Prüfung als vollkommen rein erwies.

Tabelle 11.

Fall	Diagnose	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%
1. Me.	Kollumkarzinom	16,0
2. Oe.	Blasenkarzinom, Rezidiv	10,0
3. Rei.	Uteruskarzinom	20,0
4. Men.	Karzinomrezidiv des Parametriums	33,0
5. Wru.	Kollumkarzinom	98,0

8. Blutkrankheiten (Tabelle 12).

Fast in allen Fällen war der Protoporphyringehalt im Verhältnis zum Erythrozytengehalt erhöht. Von 3 Fällen von perniziöser Anämie, bei denen die Untersuchung nach längerer klinischer Behandlung wiederholt werden konnte, zeigten 2 eine starke Abnahme des relativen Protoporphyrinwertes, während der dritte eine fast 100%ige Zunahme des absoluten, aber keine nennenswerte Veränderung des relativen Protoporphyrinwertes darbot. Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit den wichtigen von Seggel auf fluoreskopischem Wege gewonnenen Ergebnissen. Von einer näheren Erörterung der Verhältnisse bei den hypochromen Anämien kann hier abgesehen werden, zumal wir nur 3 Fälle je einmal untersucht haben. Von diesen hatten 2 ausgesprochen erhöhten Protoporphyringehalt. Man vergleiche hierzu die Angaben von Seggel[7], Vigliani[8], Vannotti[9] und Heilmeiyer*.

Tabelle 12.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Wei.	Hypochrome Anämie	60	3,4	13,0	19,0
2. Bo.	Hypochrome Anämie	—	4,0	26,5	33,0
3. Bot.	Hypochrome Anämie	60	3,7	35,0	47,0
4. He.	Myeloische Leukämie	52	2,7	21,0	39,0
5. v. Si.	Perniziöse Anämie	70	3,0	25,0	41,5
6. Th.	Perniziöse Anämie	34	1,2	5,5	23,0
7. Zi.	Perniziöse Anämie	79	3,8	17,0	22,5
8. Ja.	Perniziöse Anämie	36	1,5	15,0	50,0
9. Kr.	Perniziöse Anämie	80	4,1	10,0	12,0
10. Ma.	Perniziöse Anämie	48	2,3	14,0	30,5
11. Re.	Perniziöse Anämie	42	1,7	10,5	31,0
11a. Re.	nach 7 Wochen klinischer Behandlung	75	3,5	19,0	27,0
12. Schw.	Perniziöse Anämie	55	1,6	32,0	100,0
12a. Schw.	nach 3 Wochen klinischer Behandlung	87	3,8	18,5	24,0
13. Tho.	Perniziöse Anämie	42	1,2	10,5	43,5
13a. Tho.	nach 3 Wochen klinischer Behandlung	58	2,3	13,0	28,0
13b. Tho.	nach weiteren $2^1/_2$ Wochen	85	4,4	11,5	13,0
14. Do.	Perniziöse Anämie	70	3,8	13,5	18,0

* L. Heilmeier: Blutkrankheiten. In v. Bergmann, Staehelin u. Salles Handbuch der inneren Medizin, Bd. II. Berlin: Springer 1942.

9. Einzelfälle verschiedener Krankheiten (Tabelle 13).

Fall 1, 4 und 5 haben normalen Protoporphyringehalt; alle übrigen Fälle zeigen Werte, die an der oberen Grenze des Normalen liegen oder etwas darüber hinaus gehen.

Tabelle 13.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Ma.	Pankreatitis	90	4,6	13,5	14,5
2. Ha.	Peritonealtuberkulose	78	4,1	18,0	22,0
3. Bau.	Urämie	43	2,2	13,5	30,5
4. Ku.	Asthma bronchiale	82	4,5	10,5	11,5
5. Ni.	Meningitis epidem. (mit Eubasin behandelt)	83	5,0	11,0	11,0
6. Mö.	Zystopyelitis	92	4,9	20,0	20,5
7. O.	Hämolytischer Ikterus	64	3,4	20,0	26,5
8. La.	Trichinose	92	5,2	22,0	21,0
9. Bo.	Lupus excematose	70	3,2	13,5	21,0
10. Wi.	Akne	78	4,3	19,0	22,0

10. Schwangerschaftseklampsie (Tabelle 14).

4 schon früher von uns mitgeteilte Fälle hatten normalen Protoporphyringehalt, 8—9 γ-%, aufgewiesen. Unter 5 weiteren fanden wir in 4 Fällen ganz normale Werte; nur bei einem Falle (Be.) lag der Protoporphyringehalt an der oberen Grenze des Normalen*.

Tabelle 14.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Tü.	Eklampsie	85	—	8,0	—
2. Mü.	Eklampsie	99	4,2	9,0	10,5
3. Zi.	Eklampsie	90	3,8	9,0	12,0
3a. Zi.	1 Monat nach der Entlassung	—	—	7,5	—
4. Sp.	Eklampsie	82	4,2	10,0	12,0
5. Be.	Eklampsie	76	3,9	16,5	21,0

11. Gesunde Schwangere (Tabelle 15).

Nachdem bereits früher bei 8 gesunden Schwangeren ein mittlerer Protoporphyringehalt von 8 γ-% festgestellt war, haben wir bei 4 weiteren, im 9. Monat der Schwangerschaft stehenden einen mittleren Protoporphyringehalt von 11 γ-% gefunden.

* Die zugehörigen Blutproben waren uns, ebenso wie die von „*11.*“ und „*12.*“, von Herrn Prof. Dr. Dietel zur Untersuchung überwiesen worden.

Tabelle 15.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%		Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Mu.	Gesunde Schwangere	81	4,5	12,0	Im Mittel 11,3%	13,5
2. Wi.	Gesunde Schwangere	76	4,1	12,0		14,5
3. Ti.	Gesunde Schwangere	92	4,6	7,5		8,0
4. Al.	Gesunde Schwangere	71	4,2	13,5		16,0

12. Gesunde, nichtschwangere Frauen (Tabelle 16).

Tabelle 16.

Fall	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%		Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Fe.	93	4,2	8,0	Im Mittel 9,5	9,5
2. G.	98	4,7	11,0		11,5

13. Bleivergiftung (Tabelle 17).

Bei jedem der von uns untersuchten Fälle war der Protoporphyringehalt erhöht, in 2 Fällen schwach, in 4 Fällen stark. Demgegenüber zeigten 2 besondere Krankheitsfälle, mit Verdacht auf Bleivergiftung, der aber *nicht* bestätigt werden konnte, normalen Protoporphyringehalt. Ein Fall von Iritis chronica (bei *möglicher* Bleiwirkung) hatte anfangs einen an der oberen Grenze des Normalen liegenden, bei einer späteren

Tabelle 17.

Fall	Diagnose	Hb in %	Erythrozyten in Mill. je cmm	Protoporphyringehalt des Blutes in γ-%	Aus dem gef. Protoporphyringehalt durch Umrechnung aus 5 Mill. Erythrozyten ermittelter Wert in γ-%
1. Ra.	Bleivergiftung	60	4,0	65,0	81,0
1a. Ra.	nach 7 Wochen	—	—	61,5	—
2. Rei.	Bleivergiftung	85	4,8	24,5	25,5
3. Kl.	Bleivergiftung	—	4,2	33,5	40,0
4. Me.	Bleivergiftung	85	4,4	60,0	68,0
5. Nä.	Bleivergiftung	79	4,1	117,0	142,7
6. Vo.	Bleivergiftung	82	4,4	53,0	60,0
7. M.	Nicht bestätigter Verdacht auf Bleivergiftung	95	4,9	10,0	10,0
8. Pe.	Nicht bestätigter Verdacht auf Bleivergiftung	102	5,2	13,5	13,0
9. Ti.	Iritis chronica bei möglicher Bleiwirkung	85	5,3	20,0	19,0
9a. Ti.	nach 2wöchiger Behandlung.	—	—	16,0	—

nach mehrwöchiger klinischer Behandlung vorgenommenen Untersuchung normalen Protoporphyringehalt.

14. Porphyringehalt des Blutes Kranker nach Behandlung mit Hämatoporphyrin-Nencki (Photodyn) (Tabelle 18).

In einer früheren Arbeit* haben wir bereits gefunden, daß das Hämatoporphyrin bei *intramuskulärer* Anwendung in zwar nur sehr geringen, aber bestimmbaren Mengen im Blute nachgewiesen werden

Tabelle 18.

Fall	Diagnose	Injizierte Menge Hämatoporphyrin in mg	Hämatoporphyringehalt des Blutes in γ-%
1. Me.	Kollumkarzinom	60	11,5
2. Oe.	Blasenkarzinom, Rezidiv	72	13,5
3. Rei.	Uteruskarzinom	84	10,0
4. Men.	Karzinomrezidiv d. Parametriums	72	18,0
5. Wru.	Kollumkarzinom	76	13,0
6. Bu.	Portiokarzinom	48	15,0
7. Be.	Peritonitis	200	9,0
8. Gi.	Adnexitis	200	6,0

kann. Weiterhin erhielten wir die Gelegenheit, am Blute von 6 krebskranken Frauen, die längere Zeit mit Hämatoporphyrin behandelt waren, sowohl den Gehalt an Protoporphyrin wie auch an Hämatoporphyrin zu bestimmen. Das Hämatoporphyrin war in Form des von den Nordmark-Werken, Hamburg, hergestellten Präparates „Photodyn für Injektionen" als 0,5%ige Hämatoporphyrinlösung *intramuskulär* gegeben worden. Die insgesamt injizierte Menge Hämatoporphyrin betrug zwischen 48 und 84 mg. Der danach festgestellte Hämatoporphyringehalt des Blutes betrug 10—18 γ-%, im Mittel 13,0 γ-%, der Größenordnung nach also übereinstimmend mit der bei den früheren Untersuchungen gefundenen Konzentration. Der mit Ausnahme eines Falles gleichzeitig bestimmte Gehalt an Protoporphyrin betrug zwischen 10 und 98 γ-% (vgl. dieserhalb S. 107 unter „Krebskrankheit"). Endlich konnte noch an je einem Falle von Peritonitis und Adnexitis, die insgesamt je 200 mg Hämatoporphyrin intramuskulär erhalten hatten, das Blut auf Hämatoporphyringehalt geprüft werden, er betrug 9 bzw. 6 γ-%.

Anmerkung: Im Gegensatz zu dem beschriebenen Verhalten des Hämatoporphyrins bei intramuskulärer Anwendung konnte bei mehreren Fällen von Diabetes mellitus, die mit Photodyn *oral* behandelt waren, Hämatoporphyrin im Blute nicht nachgewiesen werden (vgl. S. 106/07).

* Schumm, O.: Z. exper. Med. **106**, H. 3, 265. — Arch. exper. Path. (D.) **191**, H. 3/4, 541 (1939).

Beschaffenheit des Blutserums.

Bei allen untersuchten Fällen haben wir auch das Blutserum geprüft, und zwar sowohl auf seinen Gehalt an Porphyrinen wie auch an besonderen pathologischen Farbstoffen. Bei der Verarbeitung von durchschnittlich 20—25 ccm Serum haben wir auf spektrochemischem Wege in keinem Falle einen Gehalt von Protoporphyrin nachweisen können und bestätigen damit unsere früheren Erfahrungen. Hervorzuheben ist, daß durch schnelle Verarbeitung des Blutes nachträgliche Hämolyse und damit möglicher Übergang kleiner Mengen Protoporphyrin aus den Erythrozyten in das Serum vermieden wurde! Auch Koproporphyrin konnte spektrochemisch in keinem Falle nachgewiesen werden. Für die Serumuntersuchung bedienten wir uns der in unserer früheren Abhandlung beschriebenen Verfahren.

Von sonstigen pathologischen Farbstoffen fanden wir in Übereinstimmung mit den früheren Feststellungen von O. Schumm[10], C. Hegler[11], R. Bingold[12] und L. Heilmeyer[13] bei Fällen von perniziöser Anämie mehrfach eine positive Hämatinreaktion (vgl. auch S. 104 unter „4. Leberkrankheiten"). Alle von uns untersuchten Krankheitsfälle waren frei von Methämoglobin und Verdohämochromogen*. Das gilt auch für alle (9) mit Sulfonamiden behandelten Fälle von Pneumonie, von denen zwei Eleudron, die übrigen Eubasin erhalten hatten! Zu erwähnen ist, daß sich der Protoporphyringehalt des Blutes bei diesen Fällen in den normalen Grenzen hielt.

Zusammenfassung.

1. Unter Anwendung des von O. Schumm beschriebenen spektrographischen Verfahrens fanden wir als normalen Protoporphyringehalt des Blutes bei Männern 10—17, durchschnittlich 13 γ-%, bei Frauen (nicht schwanger) 8—11, im Mittel 9,5 γ-%, bei gesunden Schwangeren durchschnittlich 11 γ-%. Als oberen Normalwert nehmen wir etwa 20 γ-% an. Werte über 20 bis zu etwa 35 γ-% bezeichnen wir als schwach bzw. mäßig vermehrt, solche über 35 γ-% als stark erhöht. Die untere Grenze läßt sich noch nicht sicher angeben, kann aber mit Wahrscheinlichkeit zu ungefähr 7 γ-% angenommen werden.

2. Abweichungen vom normalen Protoporphyringehalt des Blutes kommen ziemlich häufig, und zwar bei einer beträchtlichen Anzahl verschiedener Krankheiten vor.

---

* Bezüglich des Verdohämochromogens vergleiche man die Abhandlungen von Lemberg und Mitarbeitern (Ref. von L. Heilmeyer im Abschnitt „Der Hämoglobinstoffwechsel" usw. im Handbuch der inneren Medizin von v. Bergmann, Staehelin u. Salle, Bd. II, S. 54. Berlin: Springer 1942).

Eine künstliche Steigerung des Gehaltes hat sich bei Kranken einwandfrei weder durch orale noch durch intramuskuläre Zufuhr von Protoporphyrin bewirken lassen; entsprechend erfolgte kein Übergang in den Harn. Dagegen geht das „körperfremde" Hämatoporphyrin-Nencki bei intramuskulärer Zufuhr stets in das Blut über, dessen Gehalt dann bis etwa 18 γ-% beträgt.

3. Bei schwereren Fällen von Tuberkulose war der Protoporphyringehalt mehr oder weniger stark erhöht, bei Pneumoniefällen dagegen normal.

4. Herz- und Gefäßkrankheiten zeigten im allgemeinen normale, vereinzelt jedoch recht niedrige Werte.

5. Bei Magenkrankheiten bestanden meistens normale Werte, bei Karzinomfällen und einem Teil der Ulkusfälle jedoch erhöhte Werte.

6. Bei Leberkrankheiten und Nierenkrankheiten fanden sich häufiger normale, teils aber auch deutlich gesteigerte Werte. Bei einem Falle von schwerem Ikterus mit starker Hämatinämie bestand anfangs eine mäßige Erhöhung des Gehaltes (23 γ-%), die aber mit der Genesung allmählich bis auf den für den Kranken offenbar zutreffenden Normalwert (10 γ-%) abfiel.

7. Diabetesfälle hatten teilweise normale, oft aber auffallend niedrige Werte.

8. Bei Krebskranken war der Protoporphyringehalt fast regelmäßig, teils sogar stark, erhöht.

9. Mehr oder weniger starke Abweichungen vom normalen Gehalt finden sich besonders häufig bei Blutkrankheiten. — Unbehandelte Fälle von perniziöser Anämie zeigten durchweg erhöhte Werte, wobei die Umrechnung auf einen Erythrozytengehalt von 5 Millionen ein besonders eindrucksvolles Bild ergibt.

10. Bei Schwangerschaftseklampsie fanden wir in 8 Fällen vollkommen normale Werte, nur in einem weiteren Falle lag der Gehalt an der oberen Normalgrenze.

11. Bei Bleivergiftung fanden wir ausnahmslos erhöhte Werte, bis hinauf zu 117 γ-%.

Literatur.

[1] Schumm, O., unter Mitwirkung von G. Knop: Z. exper. Med. **106**, 252 (1939). — [2] Hijmans van den Bergh u. W. Grotepass: Klin. Wschr. **1933 I**, 586. — Bandow, F.: Verh. internat. Kongr. Lichtforsch., S. 348. Wiesbaden 1936; ferner Biochem. Z. **295**, 194 (1938). — Thiel, A.: Biochem. Z. **298**, 436 (1938). — [3] Schumm, O.: Z. physiol. Chemie **98**, 123 (1916); **105**, 158 (1919); **119**, 139 (1922); **126**, 187 (1923). — Spektrochemische Analyse, S. 167, 173 und Tabellen S. 261. Jena: Gustav Fischer 1927. — [4] Schumm, O.: Z. physiol. Chemie

98, 123 (1916); **105**, 158 (1919). — [5] Schumm, O.: Arch. exper. Path. (D.) **191**, 529 (1939). — Z. exper. Med. **106**, 252 (1939). — Häcker, W., unter Mitwirkung von J. Hühnerfeld: Arch. exper. Path. (D.) **184**, 723 (1939). — Hühnerfeld, J.: Die biologisch-klinische Bedeutung des Hämatoporphyrin-Nencki. Leipzig: Johann Ambrosius Barth 1941. — Holter, A.: Über das biochemische Verhalten des Hämatoporphyrin-Nencki. Diss. Hamburg 1940. — [6] Backs, H.: Dtsch. Z. Verdgs- u. Stoffw.krankh. **3**, 38 (1940). — [7] Seggel, K. A.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 52. Kongreß, 6.—9. Mai 1940, Wiesbaden. — Fol. haemat. (D.) **52**, 250 1934). — [8] Vigliani, E. u. M. Sanò: Fol. med. (Ital.) **26**, 325—344 (1940). — [9] Vannotti, A.: Porphyrine und Porphyrinkrankheiten. Berlin: Springer 1937. — Vgl. L. Heilmeyer, Blutkrankheiten. In v. Bergmann-Staehelin und Salles Handbuch der inneren Medizin, S. 34. Berlin: Springer 1942. — [10] Schumm, O.: Z. physiol. Chem. **80**, 1 (1912); **87** (1913); **97**, 32 (1916). — Münch. med. Wschr. **1912**, 2923; **1913**, 783; ferner Spektrochemische Analyse, S. 113. Jena: Gustav Fischer 1927. — Handbuch der allgemeinen Hämatologie, Bd. 1, S. 159. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1932. — [11] Hegler, C.: Münch. med. Wschr. **1912**, 2924. — [12] Bingold, K.: 34. Kongreß inn. Med., Wiesbaden 1922. — Z. klin. Med. **97**, 257 (1923). — Handbuch der allgemeinen Hämatologie Bd. 1, S. 601. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1932. — [13] Heilmeyer, L.: Blutkrankheiten. In v. Bergmann-Staehelin u. Salles Handbuch der inneren Medizin, Bd. II, S. 157f. Berlin: Springer 1942.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Rostock.

Zur hungerstillenden Wirkung des Rauchens.

Rauchen und Blutzucker.

Von

Prof. Dr. Kurt Wachholder.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Juni 1947.)

Unter den mancherlei Gedanken, aus denen geraucht wird, steht derjenige, dadurch sich über eine Flauheit hinwegzubringen bzw. sich den Hunger wenigstens vorübergehend zu stillen, zwar sicher wohl nicht an erster Stelle, spielt aber doch eine erhebliche Rolle. Es schien uns von Wert zu sein festzustellen, wie es mit diesen angeblichen Wirkungen steht, ob sie zuverlässig zu erhalten sind und unter welchen Bedingungen und vor allem, ob man das Rauchen als zeitweiligen oder partiellen Nahrungsersatz betrachten kann.

Zur Beurteilung dieser Frage muß man sich darüber klar sein, daß die Gefühle der Sättigung und des Hungers von zwei ganz verschiedenen Faktoren abhängig sind, nämlich einmal von der Füllung bzw. Leere des Magens und zweitens von dem Vorhandensein bzw. Fehlen von frei verfügbaren Nährstoffen, in erster Linie von Zucker in den Geweben und speziell im Blute. Der erstere Faktor hat ungleich stärkere Beachtung gefunden als der letztere, ja in den meisten Hand- und Lehrbüchern findet man ausschließlich ihn angeführt. Dementsprechend möchten so gut wie alle Autoren, welche sich mit der hungerstillenden Wirkung des Rauchens beschäftigt haben, diese mit ersterem in Verbindung bringen, sei es, daß durch direkte Wirkung auf den Magen dessen Entleerung verzögert und so ein Völlegefühl erzeugt werden soll (Suchy[1]), sei es, daß man durch eine Wirkung auf das Zentralnervensystem von diesem aus eine Hemmung der Hungerkontraktionen des Magens annimmt (L. R. Müller, Lickint[2]). Wie dem auch sein mag, wenn so oder ähnlich sich die hungerstillende Wirkung des Rauchens nur durch eine Hemmung der Magentätigkeit erklärte, dann handelte es sich im Grunde genommen nur um eine Gefühlstäuschung. Dem Rauchen käme dann nach wie vor nur ein subjektiver Wert zu, aber kein objektiver, ernährungsphysiologischer.

Letzteres wäre aber dann der Fall, wenn beim Rauchen durch eine Mobilisierung vorher gesperrt gewesener Reservebestände des Körpers

die Menge an frei verfügbaren Nähr- bzw. Betriebsstoffen zeitweilig erhöht und so der Gewebshunger vorübergehend gestillt wird. In Frage kommt in erster Linie eine Mobilisierung unserer Glykogenreserven. Wenn diese Erklärung zutrifft, dann handelte es sich beim Rauchen im Prinzip um dasselbe, wie wenn man durch den Verzehr eines Stückes Zucker den Blutzucker vorübergehend steigert und damit das Flauheitsgefühl, das mit dem Gewebshunger gekoppelt bzw. identisch ist, für eine Zeitlang beseitigt. Die Steigerung des Blutzuckers nach der Nahrungsaufnahme rührt nämlich auch nur zum Teil von dem aufgenommenen Zucker selbst her, kommt vielmehr im wesentlichen dadurch zustande, daß durch einen mit der Zuckeraufnahme verbundenen Reiz auf nervösem (bzw. humoralem) Wege die Leber zur Ausschüttung eines Teiles ihrer Bestände ins Blut veranlaßt wird.

Nun ist von verschiedenen Autoren (CAPONETTO[3], TÖPPNER[4], LUNDBERG[5], LATZEL[6], LICKINT) während und nach dem Rauchen eine Steigerung des Blutzuckers festgestellt worden. Über das Ausmaß und die Dauer dieser Steigerung gehen jedoch die Angaben weitgehend auseinander. Teilweise sind auch Senkungen gesehen worden. Alle eben genannten Autoren haben das Steigen des Blutzuckers nicht mit dem Verschwinden des Hungergefühls in Verbindung gebracht. Der Gedanke, daß hier eine Verbindung besteht, ist, soweit ich sehe, bisher lediglich von GREENBERG und HAGGARD[7] geäußert worden. Aber gerade diese Autoren fanden in ihren Versuchen nur eine recht geringe Steigerung, so daß die fragliche Beziehung durchaus zweifelhaft geblieben ist.

Hier konnte nur eine systematische Untersuchung an einer nicht zu kleinen Personenzahl Klarheit verschaffen, in der die Art des Rauchmaterials, Zigarette, Zigarre oder Pfeife, berücksichtigt wurde, sowie vor allem auch der Nikotingehalt, letzterer in besonderem Hinblick auf die Frage nach der Zweckmäßigkeit des Rauchens nikotinarmer oder gar nikotinfreier Tabake. Ferner mußten sowohl Gewohnheits- als auch Nichtraucher untersucht werden, um ein Urteil über den Faktor der Gewöhnung an das Rauchen zu gewinnen. Schließlich erwies es sich als notwendig, auch den Einfluß der Ausgangshöhe des Blutzuckers zu berücksichtigen.

Die Versuche wurden 1943/44 durchgeführt. Die meisten Rauchwaren wurden uns von der damaligen Reichsanstalt für Tabakforschung in Forchheim (Baden) zur Verfügung gestellt, ein kleinerer Teil von der damaligen Fachgruppe Tabakindustrie. Im einzelnen wurden verwendet:

An Pfeifentabaken:	Nikotingehalt
1. Forchheimer Gold	0,94%
2. Deutsch-orientalischer Tabak, nikotinfrei	0%
3. Eine Mischung von 5 Teilen Nr. 1 und 4 Teilen Nr. 2	0,52%

An Zigarren:	Nikotingehalt
1. Rara avis	1,71%
2. Sonderanfertigung Forchheim	1,15%
3. Volante	1,10%
4. Excelsior mit Papierumblatt	0,64%

An Zigaretten:	
1. Forchheimer Gold	1,29%
2. Echt Orient Nr. 5	0,96%
3. Favorit	0,92%
4. Kyriazi Neptun	0,54%
5. Nikotinfrei Forchheim	0,09%

Die Analysen des Nikotingehaltes führte Prof. Dr. König, Forchheim, freundlicherweise für uns durch. Hierfür und für die Überlassung der Forchheimer Tabake sind wir ihm herzlich dankbar. Die Bestimmung des Blutzuckergehaltes erfolgte nach Hagedorn-Jensen. Die Blutentnahmen wurden vorgenommen erst vor dem Rauchen zweimal in kurzen Abständen, dann 1 Min. nach Beginn des Rauchens, während desselben in Abständen von 5—10 Min. und weiter nach dem Rauchen noch $1^1/_2$—2 Stunden lang erst alle 10, später alle 15 Min. Die Hauptversuche wurden an 19 Personen größtenteils vormittags in nüchternem Zustand der Versuchsperson angestellt, teils auch spätnachmittags, wenn die Wirkung des Mittagessens abgeklungen war. Für das Ergebnis erwies es sich als belanglos, ob der Versuch vor- oder nachmittags stattgefunden hatte. Es wurde also in der Hauptsache die Frage einer Blutzuckersteigerung und eines damit verbundenen Verschwindens des Hunger- bzw. Flauheitsgefühles bei Nüchternrauchen untersucht. In einer zweiten kleineren Versuchsreihe wurde dann die Wirkung des Rauchens nach dem Essen ausprobiert, also die Frage eines längeren Erhaltenbleibens der Blutzuckersteigerung und des Sättigungsgefühles bei Rauchen nach dem Essen bearbeitet.

Als Versuchspersonen dienten junge Männer (Studenten), welche die Gewähr boten, über den Zustand ihrer Allgemeingefühle (Hunger, Sättigung) und deren Ausmaß zuverlässige Angaben machen zu können. Sie wurden bei jeder Blutentnahme danach befragt und waren angewiesen, auch alle zwischendurch eintretenden Änderungen ihres Gefühlszustandes zu melden. So mußten sie zwar von dem allgemeinen Ziel der Untersuchungen unterrichtet sein, Einzelheiten waren ihnen jedoch unbekannt, vor allem, ob sie gerade einen nikotinreichen oder -armen Tabak zu rauchen bekamen.

Von unseren 19 Versuchspersonen waren 5 Nichtraucher, die übrigen Gewohnheitsraucher. Der Tabakkonsum der letzteren hielt sich aber, den damaligen Möglichkeiten entsprechend, in mäßigen Grenzen, 3—4 Zigaretten oder 1 Zigarre oder etwa 2 Pfeifen je Tag.

Ergebnisse.

A. Rauchen in nüchternem Zustande.

Hierbei ging der subjektive Einfluß ganz überwiegend in der Richtung, daß durch das Rauchen der Hunger auf mehr oder minder lange Zeit verschwand oder zumindest schwächer wurde. Durchaus nicht ganz selten wurde aber auch kein Einfluß angegeben oder sogar das Gegenteil, daß wenn vor dem Rauchen kein Hunger bestanden habe, dieser dann beim Rauchen oder kurz danach in ausgesprochenem Maße aufgetreten sei. Der Literatur nach (LICKINT) soll letzteres Verhalten nur ganz gelegentlich vorkommen. Daß wir die Auslösung von Hungergefühl durch das Rauchen, ja sogar das Auftreten eines richtigen Heißhungers, so viel häufiger fanden als frühere Untersucher, erklärt sich wohl daraus, daß wir die Höhe des Nikotingehaltes des Rauchmaterials und auch die Art des Rauchens, ob als Zigarette, Zigarre oder in der Pfeife, viel stärker variierten als diese. In dieser Beziehung bestehen nämlich ganz erhebliche Unterschiede, so daß man nicht einfach summarisch sagen darf, *das* Rauchen mache dies und das. Dasselbe gilt auch für die Steigerung bzw. Senkung des Blutzuckers als Folge dse Rauchens.

Alles in allem ergab sich eine weitgehende Parallelität zwischen den unter den verschiedenen Rauchbedingungen beobachteten Änderungen des Hungergefühls und den gefundenen Blutzuckerschwankungen in dem erwarteten Sinne eines Verschwindens des Hungers beim Steigen des Blutzuckers und eines sich Wiedereinstellens des Hungers beim Wiederabsinken des Blutzuckers auf oder unter den Ausgangswert bzw. einer Verstärkung des Hungers oder eines Auftretens desselben, wenn der Blutzucker von vornherein sank.

Im einzelnen ergab sich Folgendes:

Pfeifenrauchen.

Die erwünschten Wirkungen der Hungerstillung und der Blutzuckersteigerung wurden am regelmäßigsten und ausgiebigsten beim Pfeifenrauchen erzielt. Hier kann man unseren Erfahrungen nach mit Sicherheit mit einem zeitweiligen Verschwinden des Hungergefühls rechnen, wenn der Tabak einen mäßigen Nikotingehalt von etwa 0,5% besitzt. Dann kam es auch regelmäßig zu Blutzuckersteigerungen um gut 20 mg-%, maximal zu solchen von 40 mg-% (Abb. 1). Die Steigerungen setzen stets schon in der ersten Minute des Rauchens ein. Der Gipfel wurde aber zu ganz verschiedenen Zeiten erreicht, teils schon während des Rauchens, teils auch erst nach dessen Beendigung. Unter allmählichem Wiederabsinken wurde frühestens $^1/_2$ Stunde, meist erst etwa 1 Stunde nach Beendigung des Rauchens der Ausgangswert des Blutzuckers wieder erreicht. Ebensolange überdauerte auch das Verschwinden des Hungers das Rauchen.

Bei einem schwereren Pfeifentabak von 0,94% war die hungerstillende Wirkung zwar auch noch regelmäßig vorhanden, aber doch erheblich flüchtiger. Der Blutzucker stieg auch regelmäßig, aber merklich weniger, und die Steigerung war oft schon während des Rauchens (Abb. 2), spätestens $^1/_2$ Stunde nach dem Rauchen wieder abgeklungen. Auch kam es zu leichteren Zwischensenkungen, vereinzelt sogar bis zu 9 mg-% unter den Ausgangswert, nach Beendigung des Rauchens sogar noch tiefer. Beim Rauchen dieses Tabaks trat demnach schon deutlich eine blutzuckersenkende Komponente mit ins Spiel. Dies darf man wohl mit der aus Tierversuchen bekannten Erfahrung in Verbindung

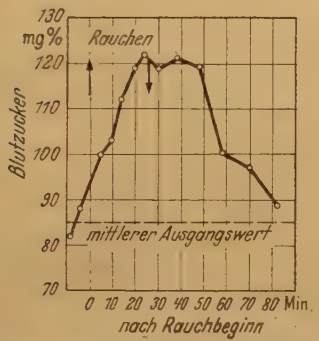


Abb. 1. Lang dauernde, kräftige Steigerung des Blutzuckers beim Rauchen einer Pfeife mit Tabak von 0,52% Nikotingehalt. In allen Abbildungen von ↑ bis ↓ Rauchen. Zeitangabe vom Beginn des Rauchens ab.

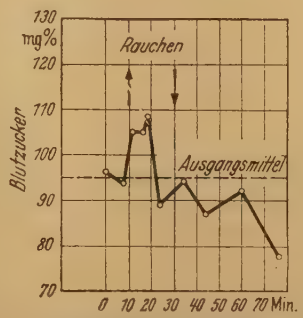


Abb. 2. Schwächere und flüchtigere Steigerung des Blutzuckers mit nachträglicher Senkung beim Rauchen eines schwereren Pfeifentabaks mit 0,94 % Nikotin.

bringen, daß das Nikotin eine zweifache Wirkung hat, in schwächerer Konzentration eine erregende und in stärkerer Konzentration eine lähmende. Nun ist ein Gehalt von 0,94% durchaus noch nicht als besonders hoch zu bezeichnen, und der Tabak wurde nur als mäßig schwer empfunden. Es ist zu erwarten, daß bei wirklich schweren Pfeifentabaken Senkungen des Blutzuckers überwiegen oder sogar allein auftreten. Leider standen uns solche Tabake nicht zur Verfügung.

Bemerkenswerterweise traten nun auch beim Rauchen des völlig nikotinfreien Tabaks als erste Wirkung regelmäßig Steigerungen des Blutzuckers auf. Die Steigerungen waren fast ebenso hoch wie beim Rauchen des mäßig nikotinhaltigen Tabaks. Die Steigerungen hielten jedoch meist nicht an. Vielmehr machte sich bald eine entgegengesetzte Wirkung stark bemerkbar; denn es kam zum Teil schon während des Rauchens, spätestens kurz danach zu einem steilen Absinken des Blutzuckers. Dies ging während des Rauchens nur leicht, nach dem Rauchen jedoch zum Teil erheblich bis unter den Ausgangswert.

Beim Rauchen nikotinfreien Pfeifentabaks wurde nur selten ein Verschwinden des Hungers angegeben, meist verstärkte sich vielmehr

der Hunger nach einiger Zeit oder er trat erst deutlich auf. Letzteres ist bei der Tendenz zu nachträglichen Blutzuckersenkungen verständlich, aber man hätte doch erwarten sollen, daß die doch regelmäßigen, wenn auch flüchtigen anfänglichen Blutzuckersteigerungen wenigstens vorübergehend von einem Verschwinden des Hungers begleitet gewesen wären. Dies war aber, wie gesagt, nur selten der Fall. Die Beziehungen zwischen Schwankungen des Blutzuckers und Änderung des Hungergefühles waren demnach nicht so eindeutig wie bei nikotinhaltigem Rauchgut.

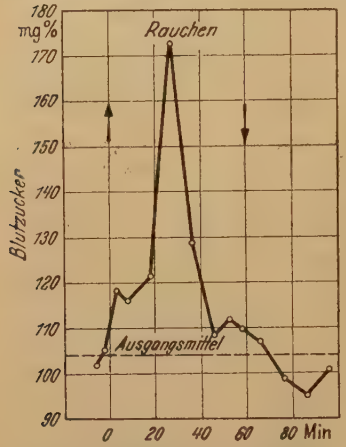


Abb. 3. Starke aber nicht anhaltende Blutzuckersteigerung beim Rauchen einer leichteren Zigarre (1,15 % Nikotin).

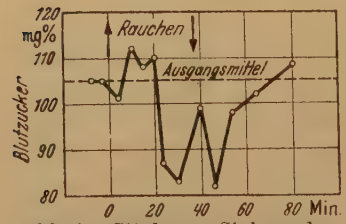


Abb. 4. Stärkeres Sinken des Blutzuckers bei einer schwerere Zigarren (1,71 % Nikotin) schlecht vertragenden Person.

Beim

Rauchen von Zigarren

wurde, wenn der Nikotingehalt mäßig war, auch stets eine Steigerung des Blutzuckers beobachtet. Ja diese übertraf bei unter Mitwirkung von nikotinarmen Tabaken hergestellten Zigarren von nur 1,10—1,15% Nikotingehalt mit 50 bis 70 mg-% noch erheblich das beim Pfeifenrauchen beobachtete Ausmaß (Abb. 3). Sie hielt aber in der Regel nicht so lange an, sondern es kam meist schon während des Rauchens der zweiten Hälfte der Zigarre zu einem steilen Wiederabsinken bis in die Gegend des Ausgangswertes und nach dem Rauchen schloß sich nicht selten ein weiteres Absinken bis leicht unter denselben an. Daß aber auch langanhaltende Steigerungen vorkommen, dafür gibt Abb. 6 ein Beispiel. Bei Zigarren mit höherem Nikotingehalt (1,71%) ging das Absinken des Blutzuckers häufig bis weit unter den Ausgangswert. Auch waren dann ebenso wie bei der Pfeife die Steigerungen erheblich geringer. Bei Personen, welche gewöhnlich schwere Zigarren nicht zu rauchen pflegten, weil sie wußten, daß diese ihnen nicht gut bekamen, waren Steigerungen kaum nachweisbar und wenn sie eintraten, wurden sie von Zwischensenkungen unterbrochen, bzw. kam es nach anfänglichem leichtem Hin- und Herschwanken um den Ausgangswert zu stärkeren Senkungen unter diesen (Abb. 4). Kurzum wie beim Pfeifenrauchen zeigte sich auch hier die zweifache Wirkung des Nikotins je nach seiner Konzentration. Dabei war der Nikotingehalt dieser Zigarren noch keineswegs besonders hoch und sie wurden auch noch nicht als besonders schwer empfunden.

Ganz entsprechend dem Verhalten des Blutzuckers kam es bei den Zigarren mit dem mäßigen Nikotingehalt regelmäßig zu einer Stillung des Hungers, die aber nicht so lange anhielt wie beim Pfeifenrauchen. Bei den stärker nikotinhaltigen Zigarren war die hungerstillende Wirkung sehr viel flüchtiger. Verschiedentlich stellte sich erheblicher Hunger schon beim Rauchen der zweiten Hälfte der Zigarre wieder ein. Ja vereinzelt trat Hunger überhaupt erst auf.

Rauchen von Zigaretten.

Während das Rauchen von Zigarren und Pfeifen nur bei Gewohnheitsrauchern untersucht wurde, geschah dies mit Zigaretten vergleichsweise auch bei Nichtrauchern, da diese bekanntlich, wenn sie das Rauchen mal probieren, nur zur Zigarette zu greifen pflegen. Geraucht wurden entsprechend der Tabakmenge einer mittleren Pfeife immer zwei Zigaretten hintereinander, und zwar nicht „durch die Lunge", um den Vergleich zum Pfeifen- und Zigarrenrauchen zu ermöglichen.

Beim Zigarettenrauchen waren die Steigerungen des Blutzuckers wesentlich geringer und kürzer als beim Pfeifen- und Zigarrenrauchen, auch machte sich sehr viel häufiger die Neigung zu Senkungen bemerkbar. Bei mäßigem Nikotingehalt von 0,5—0,9% überwogen die Steigerungen, betrugen aber höchstens 20—30 mg-%. In einem Drittel der Versuche blieben sie innerhalb der Fehlergrenze. Beim Rauchen schwerer Zigaretten (1,3% Nikotin) kam es relativ selten zu einwandfrei feststellbaren Steigerungen des Blutzuckers. Häufiger waren stärkere Senkungen schon während des Rauchens oder im unmittelbaren Anschlusse daran. Dementsprechend kam es nur bei den leichteren Zigaretten einigermaßen sicher zur Stillung des Hungers, aber auch dies nur längstens $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde, während bei den schwereren Zigaretten der Hunger häufig bestehen blieb, zum Teil sogar sich verstärkte.

Beim Rauchen der mit nur 0,09% praktisch nikotinfreien Forchheimer Zigarette sahen wir nur in einem einzigen Falle eine mit 10 mg-% stärkere und dabei länger anhaltende Blutzuckersteigerung und einen zweiten Fall mit ähnlicher starker, aber flüchtiger Anfangssteigerung. In 75% aller Versuche mit diesem Rauchgut schwankte der Blutzucker nur leicht um den Ausgangswert, wobei leichte Senkungen überwogen. Im Rest der Versuche (s. Abb. 7) entwickelten sich stärkere Senkungen. Es wird weiter unten näher erörtert werden, daß es für diesen Reaktionsunterschied wesentlich ist, ob es sich um Gewohnheits- oder Nichtraucher handelt.

Ein bestehendes Hungergefühl wurde durch das Rauchen nikotinfreier Zigaretten praktisch nie zum Verschwinden gebracht. Vielmehr verstärkte sich dieses öfter oder trat auch erst auf, und dies war mehrfach auch ohne einwandfrei feststellbare Senkung des Blutzuckers der Fall, ja selbst bei leichter Steigerung desselben. Waren schon beim

Rauchen nikotinfreien Tabaks in der Pfeife die Beziehungen zwischen Steigen und Sinken des Blutzuckers einerseits und des Verschwindens und Auftreten des Hungers andererseits nicht so eindeutig wie beim Rauchen nikotinhaltigen Materials, so ist dies also erst recht beim Rauchen nikotinfreier Zigaretten nicht der Fall. Hier wurden sogar mehrfach Gegenläufigkeiten beobachtet, allerdings bei wenig ausgesprochenen, die Fehlergrenze der Bestimmbarkeit kaum überschreitenden Blutzuckerschwankungen.

Aus der eben gemachten Schilderung der Beobachtungen geht hervor, daß, sowie die Höhe des Nikotingehaltes in Rechnung gezogen wurde, zwar beim Rauchen von Pfeifen und Zigarren, weitgehend einheitliche Ergebnisse erzielt werden konnten, daß dies aber beim Rauchen von Zigaretten auch dann noch nicht der Fall war. Hier mußten also noch andere, bisher nicht berücksichtigte Faktoren mitspielen.

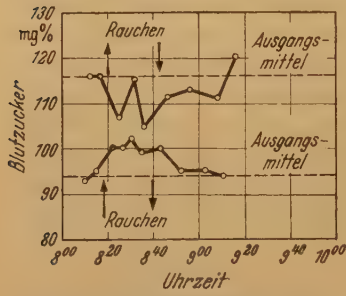


Abb. 5. Umkehr der Reaktion auf das Rauchen von 2 Zigaretten mit 1,25 % Nikotingehalt in Abhängigkeit von der Ausgangshöhe des Blutzuckers; die beiden Kurven von der gleichen Person an aufeinanderfolgenden Tagen.

Als erster dieser Faktoren erwies sich eine *Abhängigkeit der Reaktion von der Ausgangshöhe des Blutzuckers*. Diese zeigte sich in dem Sinne, daß nicht nur die Steigerungen des Blutzuckers um so geringer ausfielen, je höher dessen Ausgangswert war, sondern daß es dann häufig sogar zur direkten Reaktionsumkehr kam. Abb. 5 belegt letzteres an einem Versuchsbeispiel. Die Kurven sind von der gleichen Person an zwei aufeinanderfolgenden Tagen erhalten worden. Beide Male wurden zwei Zigaretten Forchheimer Gold mit 1,29% Nikotingehalt geraucht. Am 1. Tage, an welchem der Nüchternblutzucker mit 93—95 mg-% relativ niedrig lag, löste das Rauchen eine zwar nur schwache, aber durch ihren anhaltenden Charakter doch wohl als einwandfrei zu betrachtende Steigerung aus, während am 2. Tage, an welchem der Nüchternwert mit 116 mg-% wesentlich höher lag, die Reaktion in einer stärkeren, etwa 50 Min. anhaltenden Senkung bestand.

Eine solche Abhängigkeit der Reaktion von der Ausgangshöhe wurde übrigens nicht nur beim Rauchen von Zigaretten, sondern auch bei dem von Zigarren und Pfeifen gesehen, aber immer nur in sehr viel geringerem Ausmaße, und zu einer Umkehr kam es nur bei ungewöhnlich hohen Ausgangswerten von mindestens 135—140 mg.

Beim Rauchen fand sich also im Prinzip das gleiche Verhalten des Blutzuckers wieder wie nach einer Nahrungsaufnahme, wo wir auch

die Steigerung bei ungewöhnlich hohen Ausgangswerten in eine Senkung umschlagen sahen (Wachholder und Franz[8]).

Die so sehr viel frühere Reaktionsumkehr nach unten beim Zigarettenrauchen und die Tatsache, daß hierbei auch sonst die blutzuckersteigernden Wirkungen leichter und häufiger von Senkungen überdeckt werden, weckte in uns den Verdacht, daß hieran die *Verbrennungsprodukte des Zigarettenpapiers* schuld seien und daß in diesen ein zweiter, die Uneinheitlichkeit der Ergebnisse beim Zigarettenrauchen verursachender Faktor zu erblicken sei.

Der Verdacht, daß durch das Verbrennen des Zigarettenpapiers unerwünschte oder sogar schädliche Wirkungen zustande kämen, ist schon mehrfach geäußert worden (z. B. von Rühl[9]), ohne daß jedoch bisher irgendwelche Beweise dafür erbracht wurden.

Wir prüften diesen Verdacht dadurch, daß wir dem Pfeifentabak mit 0,52% Nikotin feingeschnitten das Papier von zwei Zigaretten beimischten und die Mischung dann in der Pfeife rauchen ließen. Das Ergebnis war, daß in der Tat die bei diesem Tabak ohne Papier so regelmäßige und anhaltende Steigerung des Blutzuckers bei den gleichen Personen nach dem Papierzusatz viel geringer ausfiel, ja in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle in eine Senkung umschlug. Andererseits ließen wir den Pfeifentabak als Zigarette rauchen mit dem gleichen, wenn auch nicht ganz so ausgesprochenen Ergebnisse. Damit dürfte erwiesen sein, daß beim Verbrennen des Zigarettenpapiers Stoffe eingeatmet werden, welche eine blutzuckersenkende Wirkung enthalten. Entsprechendes wurde übrigens auch beobachtet, wenn bei Zigarren Papier mitbenutzt wird, wie das nicht selten bei billigeren Sorten der Fall ist, bei denen als Umblatt (nicht als Deckblatt!) Papier genommen wird. Abb. 6 zeigt, daß hiernach eine sehr viel geringere Steigerung des Blutzuckers erhalten wurde, trotzdem das Auftreten einer starken Steigerung in diesem Falle doppelt begünstigt war, einmal durch den niedrigen Ausgangswert des Blutzuckers und zweitens durch den mit 0,64% nur sehr mäßigen Nikotingehalt dieser Zigarre. Gegenüber diesen miteingeatmeten Verbrennungsstoffen des Papiers bestehen unseren Erfahrungen nach erhebliche individuelle Unterschiede der Empfindlichkeit. Außer-

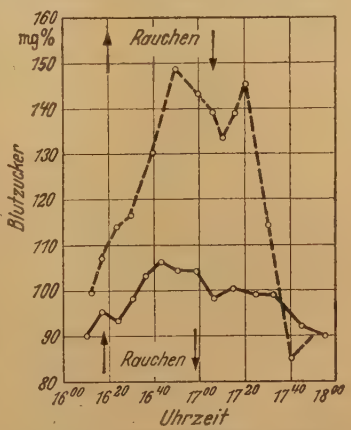


Abb. 6. Geringere Steigerung des Blutzuckers beim Rauchen einer Papier als Umblatt enthaltenden Zigarre von 0,64 % Nikotin (——) gegenüber einer papierlosen mit 1,15 % Nikotingehalt (— — —).

dem aber ergab sich, daß Gewohnheitsraucher weit weniger empfindlich hiergegen sind als Nichtraucher. Dies zeigte sich beim Rauchen der nikotinfreien Zigaretten. Unsere Nichtraucher reagierten darauf in der Mehrzahl der Versuche mit einer länger dauernden ausgesprochenen Senkung, während bei den Gewohnheitsrauchern der Blutzucker meist nur innerhalb der Fehlergrenze nach unten und auch nach oben schwankte. Abb. 7 gibt je ein typisches Beispiel wieder. Offenbar findet eine Gewöhnung an die Einatmung der Verbrennungsstoffe des Zigarettenpapiers statt.

Weiter zeigten sich auch beim Rauchen der mit 1,29% stärker nikotinhaltigen Forchheimer Zigaretten *Unterschiede zwischen Gewohnheitsrauchern und Nichtrauchern*, aber gerade in umgekehrter Richtung.

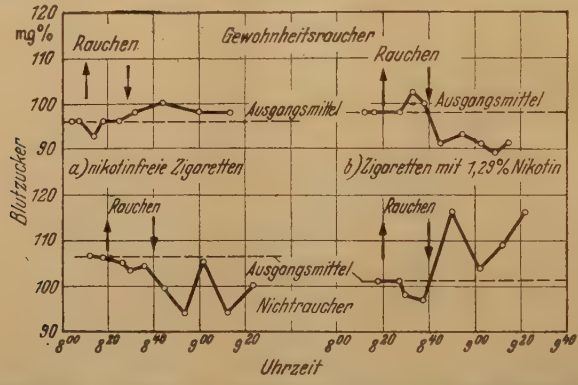


Abb. 7. Unterschiede zwischen Nichtrauchern und Gewohnheitsrauchern. *a* beim Nichtraucher starke Empfindlichkeit gegen die blutzuckersenkende Wirkung der Verbrennungsprodukte des Zigarettenpapiers und beim Gewohnheitsraucher Ausbleiben dieser Wirkung dafür; *b* beim Gewohnheitsraucher stärkere Sensibilisierung gegen die blutzuckersenkende Wirkung höheren Nikotingehaltes.

Die Gewohnheitsraucher reagierten hierauf sehr viel häufiger mit den unerwünschten Senkungen des Blutzuckers und den diese begleitenden unangenehmen subjektiven Empfindungen, während bei den Nichtrauchern die Senkungen viel weniger ausgesprochen blieben, ja sogar, wenn auch meist erst nach dem Rauchen, erhebliche Steigerungen nicht selten waren. Abb. 7 bringt hierfür ebenfalls ein typisches Beispiel. Die Kurven stammen von denselben Personen wie diejenigen vom Rauchen nikotinfreier Zigaretten. Das gegenläufige Verhalten dürfte durch die Gegenüberstellung besonders sinnfällig sein, trotzdem die Schwankungen nicht sehr groß sind.

Dieser Befund ist medizinisch recht interessant, besagt er doch, daß, am Blutzucker gemessen, durch das gewohnheitsmäßige Rauchen die Empfindlichkeit gegenüber den für stärkere Nikotindosen typischen schädlichen oder zumindest unerwünschten Reaktionen gesteigert

wird. Ein entsprechender Befund ist übrigens schon von SCHLIEPHAKE und RENK[10] auf dem Gebiete des Blutkreislaufes gemacht worden. Diese Autoren fanden die stärksten Reaktionen bei mäßigen Gewohnheitsrauchern (auch unsere Gewohnheitsraucher waren, wie eingangs hervorgehoben, den Zeitverhältnissen entsprechend nur mäßige Raucher). Sie vermuteten daraufhin, daß das gewohnheitsmäßige Rauchen in mäßigen Grenzen den Organismus gegen größere, schnell zugeführte Nikotinmengen sensibilisiere. Nun muß hervorgehoben werden, daß nach unseren Befunden durch das gewohnheitsmäßige Rauchen keine allgemeine Reaktionssensibilisierung gegen Nikotin eintritt. Beim Rauchen von Zigaretten mit dem mäßigen Nikotingehalt von nur 0,54% fanden sich nämlich keine Unterschiede zwischen Gewohnheitsrauchern und Nichtrauchern. Hier kam es in beiden Fällen als typische Reaktion zu einer mäßigen Steigerung des Blutzuckers von ungefähr gleicher Höhe und auch gleicher Dauer. Durch das gewohnheitsmäßige Rauchen tritt demnach keine Sensibilisierung auf gegenüber den für kleine Nikotinmengen typischen zuckermobilisierenden, also günstigen Reaktionen, sondern nur eine solche gegenüber den für größere Nikotinmengen charakteristischen entgegengesetzten zur Senkung des Blutzuckers führenden, also schädlichen Reaktionen.

Aus dem soeben Ausgeführten ergibt sich zugleich, daß am Verhalten des Blutzuckers keinerlei Gewöhnung gegen die Wirkungen des Nikotins festzustellen war im Gegensatz zu einer solchen gegen die Wirkungen der Verbrennungsprodukte des Zigarettenpapiers.

B. Rauchen nach dem Essen.

In der zweiten Versuchsreihe rauchten die Versuchspersonen *nach* der Einnahme eines bestimmten Probefrühstücks bzw. Probemittagessens. In dieser Versuchsreihe sollte geprüft werden, ob durch das Rauchen die Sättigungszeit bzw. die alimentäre Hyperglykämie verlängert werden. Dementsprechend wurde mit dem Rauchen erst eine gute $^1/_2$ Stunde nach Beendigung der Mahlzeit begonnen, wenn erfahrungsgemäß die alimentäre Hyperglykämie ihren Gipfel eben erreicht bzw. überschritten hat, so daß gesehen werden konnte, ob das Wiederabsinken des Blutzuckers durch das Rauchen verzögert wurde. Natürlich wurde auch der vor dem Rauchen liegende Teil der Blutzuckerkurve bestimmt von einer doppelten, vor der Mahlzeit liegenden Messung des Ausgangswertes angefangen. Am Tage vorher wurde der für die betreffende Person typische Verlauf der Blutzuckerschwankung auf die Mahlzeit allein ohne Rauchen festgelegt. Auf diese Weise mußte eine auch nur einigermaßen beträchtliche Einwirkung des Rauchens sicher entdeckt werden können, da nach früheren eigenen Erfahrungen[8], wenn man nur für genügende Konstanz der Versuchsbedingungen

sorgt, die einzelne Person an aufeinanderfolgenden Tagen einen sehr gleichmäßigen, für sie typischen Verlauf der alimentären Hyperglykämie zu haben pflegt (s. auch Abb. 9). Das Ergebnis war, daß, wenn mit dem Rauchen erst kurz nach dem Überschreiten des alimentären Gipfels begonnen worden war, das Wiederabsinken des Blutzuckers eine Zeitlang merklich abgestoppt wurde, ja sogar ein erneutes Wiederansteigen desselben eintrat, das aber immer nur gering blieb und kurz dauerte (Abb. 8). Insgesamt wurde so die alimentäre Hyperglykämie deutlich verlängert, im allgemeinen jedoch nicht mehr als um eine gute $^1/_2$ Stunde. Wenn jedoch schon auf der Höhe der alimentären Hyperglykämie geraucht wurde oder gar kurz bevor diese ihren Gipfel erreichte, dann blieb die Verlängerung der Hyperglykämie aus. Im Gegenteil, wir hatten den Eindruck, als ob sie dann eher verkürzt wurde. Wenn das Rauchen erst mitten in das Wiederabsinken fiel, so pflegte dieses bis in die Gegend des Nüchternwertes ziemlich ungestört weiter zu verlaufen, worauf dann eine mäßige Nachsteigerung folgte von der Dauer einer halben bis einer ganzen Stunde (Abb. 9). Solche Nachsteigerungen treten aber auch ohne Rauchen nicht selten auf, können bei der gleichen Person an einem Tage deutlich ausgeprägt sein und an einem anderen Tage schwächer oder gar fehlen.

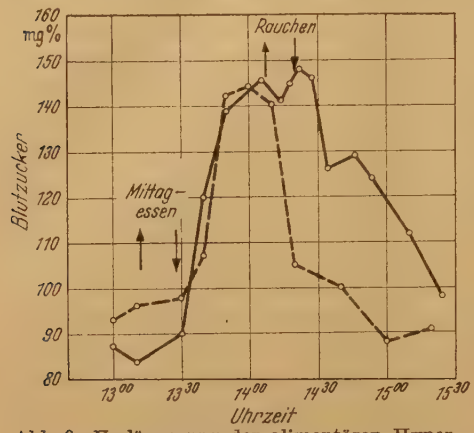


Abb. 8. Verlängerung der alimentären Hyperglykämie durch Rauchen nach dem Essen (2 Zigaretten).

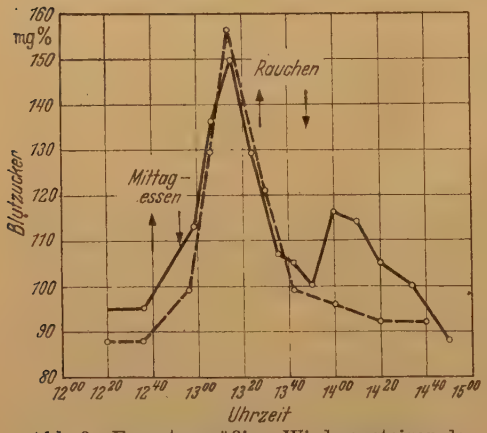


Abb. 9. Erneutes mäßiges Wiederansteigen des Blutzuckers beim Rauchen einige Zeit nach dem Essen.

Alles in allem ist demnach eine den Blutzucker steigernde bzw. hochhaltende Wirkung auch beim Rauchen nach dem Essen nachweisbar, jedoch ist sie unvergleichlich unsicherer als beim Rauchen in nüchternem Zustande.

Die Frage, ob durch das Rauchen nach dem Essen das Sättigungsgefühl länger anhält, konnte nicht eindeutig beantwortet werden. Daran ist schuld, daß man zwar ziemlich scharf fühlt und demgemäß genau sagen kann, ob und wann ein ausgesprochenes Hungergefühl verschwindet, nicht dagegen, wann die Sättigung wirklich aufhört bzw. wann man wieder anfängt, Hunger zu bekommen. Jedenfalls war aber keine beträchtliche Verlängerung der Sättigungszeit festzustellen, allenfalls ein solche von einer guten $^1/_2$ Stunde.

Herkunft der Blutzuckerschwankungen beim Rauchen.

Auf welchem Wege beim Rauchen die Blutzuckerschwankungen ausgelöst werden, wieweit auf vegetativ-nervösem oder auf innersekretorischem, darüber vermögen unsere Versuche nichts auszusagen. Es sei nur darauf hingewiesen, daß die von uns gefundenen Reaktionen des Blutzuckers den von G. Lehmann und Michaelis[11] gefundenen des Adrenalingehaltes des Blutes nicht parallel gehen. Die Autoren fanden die stärksten Steigerungen bei nikotinfreien Rauchwaren. Sie kommen zu dem Ergebnis, daß das Nikotin den Adrenalingehalt des Blutes nur senke, was zu der hier gefundenen Steigerung des Blutzuckers durch mäßige Mengen des Nikotins selbst und zu der gefundenen Tendenz zur Senkung gerade bei Nikotinfreiheit nicht paßt. Es muß aber als fraglich erscheinen, ob Lehmann und Michaelis mit ihrer fluorimetrischen Methode den biologisch aktiven Adrenalinanteil erfaßt haben.

Praktische Folgerungen.

Aus den vorstehend geschilderten Ergebnissen geht hervor, daß das Rauchen im Rahmen der Nahrungsversorgung durchaus praktisch dienlich sein kann, und zwar nicht nur subjektiv wegen seiner hungerstillenden Wirkung, sondern auch objektiv als zeitweiliger Nahrungsersatz wegen seiner zuckermobilisierenden Wirkung. Dies sind Wirkungen des Nikotins selbst, so daß von diesem Gesichtspunkte aus die Herstellung nikotin*freier* Rauchwaren zwecklos ist. Nicht zwecklos hingegen, sondern im Gegenteile höchst erwünscht ist von diesem Gesichtspunkte aus die Herstellung nikotin*armer* Rauchwaren; denn die genannten Wirkungen sind mit einiger Sicherheit nur beim Rauchen von Tabaken mit einem mäßigen Nikotingehalt zu erwarten, der 1% nicht übersteigt oder bei Zigarren nur ganz wenig. Ebenso wie bei nikotinfreien Tabaken sind die erwünschten Wirkungen auch bei Tabaken mit höherem Nikotingehalt völlig unsicher, statt dessen kommt es hier vielmehr sogar häufig zu den entgegengesetzten unerwünschten Wirkungen der Blutzuckersenkung und des Auftretens von Hunger. Diese unerwünschten Reaktionen werden durch gewohnheitsmäßiges Rauchen sensibilisiert. Die erwünschten Wirkungen werden weiter

beim Zigarettenrauchen, also gerade bei der beliebtesten und verbreitetsten Art des Rauchens, stark eingeschränkt durch Gegenwirkungen von seiten des Verbrennungsproduktes des Papiers. Hiergegen tritt freilich bei gewohnheitsmäßigem Rauchen eine gewisse Abstumpfung ein. Beim Zigarrenrauchen macht sich die Nikotinanreicherung in der zweiten Hälfte der Zigarre ungünstig bemerkbar. So bleibt, um die gewünschten Wirkungen in wirklich starker und auch einigermaßen ausdauernder Form zu erzielen, als einzig sicheres Verfahren nur das Pfeifenrauchen übrig. Alles in allem muß man sich darüber klar sein, daß das Rauchen nur als ein recht beschränkter und auch flüchtiger Nahrungsersatz zu betrachten ist, nur als ein vorübergehender Notbehelf.

Als ein Notbehelf, um Hungerflauten zu überwinden, kann es freilich recht dienlich sein, zumal der dann vorhandene, ausgesprochen niedrige Blutzuckergehalt die gewünschten Wirkungen nicht nur erheblich verstärkt, sondern auch sicher gestaltet. Dies trifft dann auch für das Zigarettenrauchen zu.

Durch Rauchen im Anschlusse an das Essen das Wiederauftreten des Hungers hinausschieben zu wollen, erwies sich als sehr unsicher und fraglich.

Literatur.

[1] Suchy: Wien. med. Wschr. **1918**, 1422. — [2] Lickint: Tabak und Organismus. Hippokrates Verlag 1939. — [3] Caponetto: Klin. Wschr. **1928**, 701. — [4] Töppner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 223 (1931). — [5] Lundberg u. Thyselius Lundberg: Acta med. scand. (Schwd.), Suppl. **38** (1931). — [6] Latzel: Wien. med. Wschr. **1933**, 19. — [7] Greenberg u. Haggard: Umschau **1934**, 32. — [8] Wachholder u. Franz: Pflügers Arch. **247**, 101 (1943). — [9] Rühl u. Pehjung Lin: Dtsch. med. Wschr. **1936**, 492. — [10] Schliephake u. Renk: Dtsch. med. Wschr. **1943**, 245. — [11] Lehmann u. Michaelis: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, 627 (1943).

Aus dem Institut für allgemeine Hygiene, Berlin-Dahlem
(Leiter: Ministerialdirektor Dr. Schopohl).

Zur Pharmakologie der Chinaalkaloide*.

Von

M. R. Bonsmann.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Während des Krieges ergab sich die Notwendigkeit, einige klinisch seltener verwendeten Alkaloide aus der Chinarinde zu untersuchen, da sie das nur noch in geringen Mengen zur Verfügung stehende Chinin ersetzen sollten. Sie waren zusammengefaßt in dem Mittel Prochinin, das folgende Zusammensetzung[1, 5] hatte:

Cinchonin 47,5% Cinchonidin 47,5% Chinidin 5%

Es war zunächst unsere Aufgabe, vergleichsweise Prochinin und Chinin zu prüfen. Da sich aber recht auffallende Befunde ergaben, wurden die Einzelbestandteile des Prochinins ebenfalls untersucht, soweit das zur Zeit möglich ist. Es standen zur Verfügung Chinidin und Cinchonin**. Das erstere dürfte wegen der geringen im Prochinin enthaltenen Menge für dessen Gesamtwirkung keine wesentliche Bedeutung haben. Das Cinchonidin habe ich bisher noch nicht erhalten können. Ergänzende Versuche damit werden zu gegebener Zeit nachzuholen sein. Nach dem Schrifttum[2–7] ist es mit dem Cinchonin isomer, und pharmakologisch weis es mit diesem weitgehende Übereinstimmung, besonders in der Wirkung auf Darm, Uterus, Muskulatur, Hirudopräparat und Pneumokokkenwachstum auf. Es ist daher nicht anzunehmen, daß die von ihm zu erwartenden Ergebnisse ganz wesentlich von denen der vorliegenden Prochinin-Bestandteile abweichen werden.

---

* Herrn Prof. Heubner zum 70. Geburtstag.

** Herrn Prof. Griebel vom Institut für Lebensmittel, Arzneimittel und gerichtliche Chemie, Berlin-Charlottenburg verdanke ich die Überlassung von Cinchonin.

[1] Hofmann, R.: Der Apotheker im Osten, S. 161. 1942. Dort auch weiteres Schrifttum. — [2] Santesson: Arch. exper. Path. (D.) **32**, 345 (1893). — [3] Hale, W.: J. Pharmacol. (Am.) **6**, 602. — [4] Ladisch, E.: Inaug.-Diss. Greifswald 1914. [5] Kemkes, B.: Pharmazie **1946**, H. 5, 195. — [6] Starkenstein, E.: Arch. internat. Pharmacodynam. **66**, 168 (1941). — [7] Starkenstein, E. u. M. A. Zagt: Arch. internat. Pharmacodynam. **67**, 74 (1942).

Zunächst seien in der folgenden Tabelle die *tödlichen bzw. hämolytischen Dosen* mitgeteilt:

Tabelle 1.

Tödliche Mengen für	1. Paramäcien %	2. Daphnien %	3. Hämolyse %	4. Grasfrosch g/kg	5. Maus g/kg	6. Ratte g/kg	7. Meerschweinchen g/kg	8. Katze g/kg
Chinin	0,03	0,1	0,25	0,2	0,2	0,2		
Prochinin	0,03	0,1	0,25	0,2	0,2	0,2	[0,16]	[0,1]
Chinidin	0,05	—	0,2	0,25	0,4	—	—	—
Cinchonin	0,05	—	0,2	0,2	0,4	—	—	—

Das Ergebnis der Spalten 4—8 wurde bei subcutanen Injektionen gewonnen. Für das Chinin lagen die von uns ermittelten tödlichen Mengen durchgehends etwas niedriger als die im Schrifttum[8, 9] angegebenen. Ob während des Krieges das schlecht ernährte Tiermaterial empfindlicher war, muß dahingestellt bleiben. Unsere Befunde über Chinidin und Cinchonin wurden zu einem 2 Jahre später liegenden Zeitpunkt erhalten. Sie liegen meist etwas höher, das Tiermaterial war auch etwas gepflegter. Buttle u. Mitarbeiter[8] fanden für Chinin, Chinidin, Cinchonin und Cinchonidin allerdings bei intravenöser Injektion, annähernd die gleichen Werte.

Typischen Tod durch primäre Atemlähmung habe ich weder bei Mäusen, Ratten, noch Meerschweinchen beobachtet. Er kommt anscheinend nicht so oft vor, wie Rohde[11] anzunehmen scheint. Nach Cinchonininjektionen sahen wir bei Mäusen und Meerschweinchen allerdings bei hohen, gerade noch unter-tödlichen Dosen Atemverlangsamungen, bei letzteren von 80 auf 20 Atemzüge in der Minute, unterbrochen von Atempausen. Bei intravenösen Chinidininjektionen erfolgte der Tod meist so plötzlich, wie es wohl nur bei primärem Herztod vorkommt. Bei der negativ inotropen Wirkung der Chinaalkaloide liegt es am nächsten, einen primären Herzstillstand als Todesursache anzunehmen. Damit stimmt von unseren Befunden allerdings nicht gut überein, daß das Prochinin am Straubherzen etwa 4mal so giftig ist wie das Chinin, wovon wir uns überzeugten. Nach Santesson[2] wäre das Cinchonidin für diese hohe Toxizität am Herzen verantwortlich zu machen.

Klonische Krämpfe sahen wir hier und da nach Prochininjektionen bei Ratten, besonders aber bei Meerschweinchen. Ein Tier zeigte immer wiederkehrende Zuckungen schon fast eine Stunde vor

[8] Bachem, K.: Therap. Mh. **24** (1910). — [9] Schröder, K.: Arch. exper. Path. (D.) **72**, 361 (1913). — [10] Buttle u. Mitarb.: Biochem. J. (Brit.) **1934**, 426. — [11] Rohde, E.: In Heffters Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. II/1, S. 42.

dem Tode. Auch bei zwei weiteren Tieren, die höhere Dosen überstanden, traten Krämpfe auf. Sie scheinen auf Cinchonin zurückzuführen zu sein, denn dieses ist schon von A. HEFFTER[12] bei Katzen und von S. WEBER[13] bei Hunden als typisches Krampfgift verwendet worden (vgl. auch KUNKEL, Toxikologie S. 747 und 754). Wir haben bei Cinchonin keine Versuche mit Dosen bis zur Krampfauslösung angestellt, da wir Tierverluste vermeiden mußten. Nach Chinin haben wir nie Krämpfe gesehen.

Die eingeklammerte tödliche Dosis für Meerschweinchen stammt nur von einem Tier. Sie liegt aber sehr wahrscheinlich etwas tiefer als bei den anderen Nagern; denn zwei weitere Tiere bekamen mit 0,08 g/kg bereits allerdings bald vorübergehende Krämpfe. Die letale Dosis bei der Katze ist nur geschätzt. Ich führe sie nur als ungefähren Anhaltspunkt nach dem Verhalten eines Tieres an, das schon durch 0,06 g/kg eine mehrere Tage anhaltende schwere Schädigung (hochgradige Mattigkeit, Nahrungsverweigerung) aufwies. Die tödliche Dosis der Katze ist wohl zweifellos erheblich niedriger als die von Ratten und Mäusen.

Beim Vergleich von Chinin und Prochinin fanden wir, wie die Tabelle zeigt, die gleichen tödlichen bzw. hämolytischen Dosen. Nun aber verhält sich die therapeutische Dosis von Chinin zu Prochinin wie 1 : 1,5[1]. Vom früheren Reichsgesundheitsamt veranlaßte klinische Untersuchungen ergaben sogar ein Verhältnis 1 : 1,5—2,0. Demnach wäre die therapeutische Breite des Prochinin geringer als die des Chinin, eine Überlegung, die auch für die folgenden Ergebnisse berücksichtigt werden muß.

Auf Hämiglobinbildung kann die hohe Empfindlichkeit der Katze gegen Prochinin nicht zurückzuführen sein, denn wir fanden nach Prochinin in der Dosis 0,04 g/kg nur einen Gehalt von 7% des Gesamthämoglobins im Blut der Katze, das nach HEUBNER und Mitarbeitern[14] bereits normalerweise etwa 1% Hämiglobin enthält. Die Messungen wurden nach dem Verfahren von HAVEMANN und Mitarbeitern[15] vorgenommen.

Über die *Eiweißfällung durch Chinin* habe ich bereits früher berichtet[16]. Es ist nachzutragen, daß *Prochinin, Chinidin und Cinchonin* ebenfalls bis zu Konzentrationen von 1,25% mit Serum Fällungen ergeben. Diese sind bei allen genannten Alkaloiden irreversibel.

Es wurde bereits früher[16] darauf hingewiesen, daß das Auftreten steriler Abszesse, die bekanntlich nicht nur bei subkutanen, sondern auch bei intramuskulären Injektionen von Chininlösungen vorkommen

[12] HEFFTER, A.: Arch. exper. Path. (D.) **31**, 254 (1893). — [13] WEBER, S.: Arch. exper. Path. (D.) **58**, 106 (1908). — [14] HEUBNER, W. u. Mitarb.: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 313 (1947). — [15] HAAEMVNN u. Mitarb.: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — [16] BONSMANN, M. R.: Dtsch. Gesdh.wes. **1946**, 695.

können, vielleicht auf diese Fällung zurückzuführen sein könnte. Wir haben durch täglich verabreichte Injektionen von 25%igen Chininlösungen einerseits und Prochininlösungen andererseits in den Quadriceps femoris des Meerschweinchens nach 4—5 Einspritzungen bei Chinin Ausbildung eines sterilen Abszesses in 3 Fällen beobachtet, bei Prochinin auch bei weiterer Verabreichung bis auf 10 Injektionen dagegen nicht. Es ist nicht gerade wahrscheinlich, daß die Eiterbildung darauf zurückzuführen ist, daß die Eiweißfällung im allgemeinen bei Chinin etwas grobflockiger erscheint als bei Prochinin. Eher wäre daran zu denken, daß die 25%ige Chinin-Urethanlösung bei Zimmertemperatur zum Teil ausfällt, während das Prochinin (ebenfalls mit Äthyl-Urethan) in Lösung bleibt. Man müßte demnach auch intramuskulär verdünntere Chininlösungen injizieren.

Von Chinidin und Cinchonin haben wir so konzentrierte Lösungen nicht verwenden können. Mit 1%igen Lösungen von ersterem fanden wir bei Mäusen auffallend oft Nekrosebildungen, obwohl die Maus bekanntlich sonst sehr wenig empfindlich ist, ebenso wie das Meerschweinchen, das auch gegen reizende Stoffe und banale Infektionen sehr widerstandsfähig ist. Wir glaubten daher zunächst nicht, daß es gelingen würde, beim Meerschweinchen sterile Abszesse mit Chinin erzeugen zu können. Es hat sich aber, wie wir oben sahen, gezeigt, daß das Meerschweinchen zur Entscheidung derartiger Fragen in entsprechender Versuchsanordnung (hohe Konzentrationen, wiederholte Injektionen) ein brauchbares Versuchstier ist.

Als wir an *normalen Meerschweinchen* das Prochinin auf *temperaturherabsetzende Wirkung* prüften, waren wir erstaunt, mit Dosen von 0,05 g/kg, also etwa 30% der tödlichen, Senkungen von bisweilen fast 4^0 zu finden. In einer Reihe von Fällen sind diese sehr wahrscheinlich noch tiefer gewesen, wir konnten sie nur mangels geeigneter Thermometer nicht genau feststellen. Auch nach Chinidin und Cinchonin 0,05 g/kg intramuskulär stellten wir Herabsetzung der Körpertemperatur um 1,2—$2{,}5^0$ fest.

Demgegenüber ergaben sich bei Chinin in gleichen Mengen oft gar keine Änderungen der Körperwärme, selten Senkungen von mehr als 1^0. Simon A. u. Zcoldos P.[17] fanden beim normalen Kaninchen nach einem Alkaloidgemisch in der Zusammensetzung ähnlich der des Prochinins sowie bei den Einzelalkaloiden nur Temperaturabfall von 0,3—$1{,}2^0$.

Eine Zusammenstellung unserer Ergebnisse bringt die folgende Tabelle.

Die Umrechnung der Werte für Chinidin und Cinchonin in Prozente ist nur erfolgt, um ungefähr die Eingliederung in das übrige Schema zu zeigen.

[17] Simon, A. u. P. Zsoldos: Arch. exper. Path. (D.) **183**, 459 (1936).

Tabelle 2.

	Zahl der		Temperatursenkungen um			
	Tiere	Untersuchungen	$< 1°$	$1—1{,}9°$	$2—2{,}9°$	$> 3°$ (max. $3{,}9°$)
Chinin	12	37	90%	10% (max. $1{,}5°$)	0	0
Prochinin . . .	12	42	7%	24%	29%	40%
Chinidin. . . .	4	4	0	75%	25%	0
Cinchonin . . .	4	4	0	25%	75%	0

Bei den beiden anderen Alkaloiden zeigt sich, daß bei Chinin 90% der Senkungen unter 1^0, bei Prochinin 93% über 1^0 liegen. 40% der Herabsetzungen der Temperatur waren bei Prochinin höher als 3^0, in 1 Falle wurde $3{,}9^0$ gemessen, der wahre Wert war, wie erwähnt, wahrscheinlich noch höher. Übrigens waren die Temperatursenkungen über 1^0 nach Chinin: 1,1, 1,3, 1,3 und $1{,}5^0$.

Auf der Höhe des sehr rasch erfolgenden Temperaturabfalles, etwa 1—$1^1/_2$ Stunden nach der Injektion, zeigten die Tiere nichts Auffallendes. Sie saßen aufrecht, unterbrachen das Fressen allerdings meist für 1—2 Stunden, waren etwas träge. Eine regelmäßige Änderung von Atmung und Herztätigkeit, letztere auskultiert, war nicht festzustellen, jedoch kamen Verminderungen bis auf die Hälfte der Ausgangswerte vor. Bei 6 von 8 Tieren fiel vorübergehend der Umdrehreflex bei Prochinin aus. Bei Chinin, aber auch bei Chinidin und Cinchonin (bei letzteren beiden handelte es sich freilich nur um je 4 Versuche) ist nie sein Fehlen beobachtet worden. Der v. Preyersche Ohrreflex blieb in der gewählten Dosierung stets erhalten. Beim Frosch wurde nie ein Ausfall des Kompaßreflexes in 30% der tödlichen Dosis festgestellt.

Der Temperatursturz nach Prochinin erfolgt in 1—$1^1/_2$ Stunden nach der Injektion, nach 5—6 Stunden ist die Norm wieder erreicht. Wenn zwischen den einzelnen Einspritzungen von Prochinin bzw. Chinin jedesmal Pausen von 4—5 Tagen eingelegt wurden, zeigte sich weder eine vermehrte noch eine verminderte Empfindlichkeit.

Daß klinisch Prochinin leichter zu Kollaps führt als Chinin, ist uns nicht bekannt geworden. Nach den Befunden an Meerschweinchen müßte man aber, obwohl bei diesen keine typischen Kollapssymptome (s. z. B. Bradykardie!) auftraten, doch beim Menschen die Möglichkeit des Versagens des Gefäßsystems infolge von Untertemperaturen in Betracht ziehen, besonders bei den Erkrankungen, bei denen solche Erscheinungen fast pathognomonisch sein können wie bei Typhus, fieberhafter Tuberkulose und Meningitis, zumal wenn Prochinin in höheren Dosen als Chinin verordnet wird.

Zur Normaltemperatur unserer Meerschweinchen möchte ich mitteilen, daß wir bei den 12 Tieren in der Regel nur Schwankungen von

0,6—0,8°, höchstens bis 1° gesehen haben. Im Laufe des Vormittags ergaben sich nur Steigerungen, nie Senkungen.

Wir haben weiter mit der gleichen Dosierung 0,05 g/kg das *Verhalten der Leukozyten* bei Meerschweinchen nach Injektion der verschiedenen Chinaalkaloide untersucht, nachdem Lantsch[18] Steigerung bei Chinin mitgeteilt hat. Wir fanden diese auch für dieses Alkaloid bis zu 43% des Ausgangswertes (vgl. Tabelle 3). Dagegen traten bei Prochinin Senkungen zwischen 17—60% auf. Nun weisen die Normalzahlen bei verschiedenen Tieren ganz erhebliche Schwankungen auf, sie liegen im allgemeinen zwischen 10000 und 20000. Beim einzelnen Tier sind die Unterschiede am gleichen Tag nicht so hoch. Schwankungen bis 30% möchten wir aber noch in den Bereich des Physiologischen rechnen und hierin lagen denn auch noch die allerdings wenigen Zahlen für Chinidin und Cinchonin. Demnach wäre bei Chinin nur in 2 von 8 Fällen eine, auch nicht erhebliche Steigerung festzustellen. Bei Prochinin wurde unter 8 Fällen 5mal eine Senkung und zwar bis 60% des Ausgangswertes beobachtet. Durch diesen letzteren Befund wurde die Frage nahegelegt, ob nicht durch das Prochinin eine Agranulozytose ausgelöst werden könnte. Es wurden daraufhin 6 Meerschweinchen bis zu 5mal hintereinander täglich mit 0,05 g/kg Prochinin gespritzt. Die Leukopenie wurde dadurch nicht verstärkt. Leukozytenwerte unter 5900 cmm wurden nie beobachtet. Auch bei diesen Tieren zeigte sich übrigens nur eine geringe kumulative Wirkung: erst am letzten Tage waren sie etwas leichter erregbar und schreckhaft, zeigten auch leichte, bald vorübergehende Zuckungen.

Tabelle 3.

Meerschweinchen	Leukozytenzahlen in % des Ausgangswertes		Umdrehreflex	
	Prochinin	Chinin	Prochinin	Chinin
G	— 50%	+ 15%	+	+
H	— 25%	+ 39%	0	+
I	— 36%	+ 15%	0	+
K	— 60%	+ 30%	+	+
L	— 50%	+ 30%	0	+
M	— 30%	± 0	0	+
N	— 25%	+ 43%	0	+
O	— 32%	+ 6%	0	+

Als Ursache für die Leukozytenverschiebungen muß man wohl beim Chinin daran denken, daß eine Leukozytose auch durch lokale Gewebsreizung an der Injektionsstelle verursacht sein könnte, sie wäre dann als unspezifisch aufzufassen. Es sind bei den einige Jahre zurückliegenden Untersuchungen leider keine Kontrollen mit peroraler Einverleibung an den Tieren, die Leukozytenvermehrung aufwiesen, angesetzt worden. Zur näheren Klärung der Frage der Leukopenie nach Prochinin haben wir noch die folgenden Untersuchungen angestellt.

[18] Lantsch, J.: Inaug.-Diss. Leipzig 1934.

Mit Hilfe der von uns[19] bereits beschriebenen amerikanischen Feldmethode war es möglich, mit ganz geringen Blutmengen *Hämoglobin und Serumeiweißbestimmungen* laufend in größerer Zahl durchzuführen. Die Meerschweinchen bekamen wieder 0,05 g/kg der in der Tabelle 4 aufgeführten Alkaloide intramuskulär. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle 4.

Meerschweinchen	Senkung der Werte in % des Ausgangswertes von							
	a) Hämoglobin nach				b) Serumprotein nach			
	Prochinin	Chinin	Chinidin	Cinchonin	Prochinin	Chinin	Chinidin	Cinchonin
P	10%	8%	12%	20%	17%	13%	16%	20%
Q	12%	8%	15%	18%	16%	16%	16%	20%
R	10%	4%	16%	17%	17%	13%	16%	20%
S	12%	8%	15%	27%	26%	10%	18%	28%

Die Tagesschwankungen sowohl für Hämoglobin wie für Serumeiweiß betrugen bei den gleichen 4 Tieren, die zur Kontrolle mit der gleichen Flüssigkeitsmenge gespritzt waren, nicht mehr als 2—6% des Ausgangswertes. Die Senkungen waren am deutlichsten nach Cinchonin, am geringsten nach Chinin. Sie sind offenbar auf Wasserverschiebungen zurückzuführen, da sie nur 4—6 Stunden bestehen blieben, danach war die Norm wieder erreicht. Bei einer Vermehrung der Blutmenge kann eine Leukopenie lediglich auf Konzentrationsänderung des Blutes zurückzuführen sein. Es dürfte sich empfehlen, künftig bei ähnlichen Befunden gleichzeitig Hämoglobin und Serumeiweißbestimmungen anzusetzen, wozu sich die amerikanische Feldmethode als brauchbar erwiesen hat.

Von den bei unseren Versuchen mit Chinaalkaloiden verwendeten Meerschweinchen haben 8 Tiere in 7—8 Wochen je etwa 0,3 g Chinin und 0,3 g Prochinin je Kilogramm Körpergewicht, demnach in dieser Zeit etwa je die doppelte tödliche Chinin- und Prochininmenge erhalten. Die Tiere wiesen am Ende der Versuche keinen krankhaften Befund bei der körperlichen Untersuchung und im Harn auf. Sie hatten alle 50 bis 80 g an Gewicht zugenommen.

Zusammenfassung.

Die tödlichen Dosen ergaben für Chinin, Prochinin, Chinindin und Cinchonin nach subcutaner Injektion etwa die gleichen Werte.

Prochinin, Chinidin und Cinchonin fällen Eiweiß in etwa gleicher Konzentration wie Chinin.

[19] Bonsmann, M. R.: Pharmazie (im Druck).

Durch wiederholte intramuskuläre Injektionen konnten mit Chinin sterile Abszesse beim Meerschweinchen erzeugt werden, dagegen nicht mit Prochinin.

Prochinininjektion von 0,05 g/kg führt beim normalen Meerschweinchen zu einem Temperatursturz bis zu 4^0, auch bei Chinidin und Cinchonin wurden erhebliche Senkungen, aber nicht über 3^0, beobachtet. Die Tiere zeigten keine Kollapserscheinungen, im Gegenteil ein Teil von ihnen wies Bradykardie auf. Nach Chinin bekamen nur wenige Tiere Abnahme der Körperwärme um mehr als 1^0, höchstens $1{,}5^0$.

Nach Chinininjektionen kam es — allerdings keineswegs regelmäßig — zu einem leichten Anstieg der Leukozytenzahlen, die vielleicht auf Gewebsreizung zurückzuführen ist. Nach Prochinin wurden öfter Leukopenien beobachtet, die aber nach wiederholter Injektion nicht zunahmen und die wohl durch Wasserverschiebungen bedingt sind.

Die Chinaalkaloide führen zu einer einige Stunden anhaltenden gleichzeitigen Senkung der Hämoglobin- und Serumproteinwerte, besonders nach der Injektion von Cinchonin 0,05 g/kg Meerschweinchen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.

Die Gegenwirkung von Atropin gegen Acetylcholin*.

Von

Prof. Dr. med. Ernst Frey, Direktor des Instituts.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

A. Einleitung.

Der Antagonismus von Atropin gegen Acetylcholin (oder eines der parasympathischen Reizgifte) wird nur dann zu klären sein, wenn von den verschiedensten Seiten Beobachtungsbefunde erbracht werden, welche die Auslegungsmöglichkeiten einengen. Am einleuchtendsten wäre eine Beeinflussung der beiden Stoffe, die sich im Reagenzglase als Löslichkeitsänderung, als Komplexbildung oder in ähnlicher Weise äußern würde. Diesen Möglichkeiten bin ich nachgegangen. Freilich wird man von vornherein nicht erwarten, eine allgemeine Reaktion zu finden; denn der Antagonismus zeigt sich nur in ausgesprochener Weise an den parasympathischen Nervenenden, nicht aber an anderen Stellen, wo ebenfalls Acetylcholin entsteht und Atropin nicht antagonistisch wirkt, wie an den Synapsen, der Endplatte des Muskelnerven, ja im Nerven selbst, wenn man die Konzentrationen des Atropins nicht unphysiologisch übertreibt. Und so wird sich eine Beeinflussung nur an bestimmten Stellen oder unter bestimmten Bedingungen finden lassen; daher habe ich auch der Änderung der Permeabilität Aufmerksamkeit geschenkt und dort einen wechselnden Einfluß gefunden, wie ihn Straub[1] zuerst am Torpedoherzen beobachtete. Auch anderen Möglichkeiten wurde nachgegangen, der Beeinflussung der Cholinesterase durch Atropin, dem gegenseitigen Verhältnis der beiden Stoffe am physiologischen Objekt usw. Es zeigte sich, daß ein Einfluß bei verschiedenen Versuchsanordnungen nicht vorhanden war, daß also — wie von vornherein zu erwarten war — der Antagonismus sich nur unter Dazutreten eines dritten Partners, nämlich dem physiologischen Substrat, zeigte; und so konnten die beiden Stoffe sich nur im Verhältnis zu einem Dritten beeinflussen.

Dagegen wurde eine Änderung der Grenzflächenspannung Wasser-Öl von Acetylcholin durch Atropin gefunden, im Sinne einer Verdrängung aus der Oberfläche.

B. Gegenwirkung des Atropins verglichen mit der von Kurare am Darm.

Die Gegenwirkung von Atropin gegen Acetylcholin am Herzen und am Musculus rectus des Frosches führt Clark[2] auf das Verhältnis der

* Herrn Prof. Dr. W. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

beiden Konzentrationen zurück; so herrscht das Massenwirkungsgesetz und es kommt ein Streit um das Besetzen einer giftempfindlichen Stelle oder eine gegenseitige Beeinflussung wie eine Komplexbildung in Betracht.

Atropin gegen Acetylcholin.

	Atropin			
	0,002 %	0,0002 %	0,00002 %	
		Längsmuskulatur:		
Acetylcholin				
0,001 %	(+)	+	++	Tonus
	+	+	++	Beweg.
0,0001 %	ø	ø	+	Tonus
	(+)	+	+	Beweg.
0,00001 %	ø	ø	(+)	Tonus
	ø	ø	+	Beweg.
0,000002 %			ø	Tonus
				Beweg.
		Ringmuskulatur:		
0,001 %	ø	+	++	Tonus
	+	+	++	Beweg.
0,0001 %	ø	ø	+	Tonus
	ø	+	+	Beweg.
0,00001 %		ø	(+)	Tonus
		ø	(+)	Beweg.
0,000002 %			ø	Tonus
				Beweg.

Kurare gegen Acetylcholin.

	Kurare			
	0,02 %	0,002 %	0,0002 %	
		Längsmuskulatur:		
Acetylcholin				
0,001 %	ø	++	++	Tonus
	+	++	++	Beweg.
0,0001 %	ø	+	++	Tonus
	+	+	++	Beweg.
0,00002 %	ø	(+)	++	Tonus
	(+)	+	++	Beweg.
0,00001 %	ø	(+)	+	Tonus
	ø	(+)	+	Beweg.
0,000001 %		ø	(+)	Tonus
		ø	(+)	Beweg.
		Ringmuskulatur:		
0,001 %	+	++		Tonus
	+	++		Beweg.
0,0001 %	(+)	+		Tonus
	+	+		Beweg.
0,00002 %	(+)			Tonus
	(+)			Beweg.
0,00001 %	ø	ø		Tonus
	ø	+		Beweg.
0,000002 %		ø		Tonus
		ø		Beweg.

Ich habe am Kaninchendarm (isoliert in Tyrodescher Flüssigkeit) die Konzentrationen von Atropin (und Kurare) ausprobiert, welche die Wirkung von Acetylcholin verhindern (s. Lieselotte Schmidt[3]).

Es ergibt sich also, daß die Gegenwirkung des Atropins gegen Acetylcholin ungefähr proportionale Werte liefert, daß eine 10fach stärkere Atropinlösung die Wirkung einer 10fach stärkeren Acetylcholinlösung aufzuheben vermag, wenn die Ausgangslösungen sich in der Wirkung gerade paralysieren. — Bei Kurare ist das nicht der Fall: hier verhindert Kurare (0,02%) schon den Tonusanstieg nach Acetylcholin (0,001%), aber man muß die Acetylcholinlösung auf das 1000fache verdünnen, ehe die 10fach schwächere Kurarelösung den Tonusanstieg völlig verhindert.

Dies deutet wohl darauf hin, daß der Antagonismus von Atropin-Acetylcholin direkter, spezifischer ist, vielleicht an derselben Stelle ansetzt und durch Konkurrenz wirkt, während der Antagonismus von Kurare gegen Acetylcholin auf komplizierteren Verhältnissen beruhen muß.

C. Wirkung von Atropin auf die Permeabilität.

1. Am durchströmten Frosch.

a) Methylenblau. Straub[1] führte den Antagonismus des Atropins gegen Muskarin darauf zurück, daß Atropin die Eindringungsgeschwindigkeit des Muskarins herabsetzt und da Muskarin als Potentialgift nur während des Eindringens wirke, nicht aber durch die Anwesenheit in den giftempfindlichen Apparaten, so kann ein Stoff, der das Eindringen eines Potentialgiftes erschwert, seine Wirkung aufgeben. Die Konzentration an Muskarin in den einzelnen Phasen der Vergiftung des Torpedoherzens bestimmte Straub am Aplysiaherzen, das gegenüber Atropin unempfindlich ist, da es keinen Vagus besitzt, wohl aber der Giftwirkung des Muskarins unterliegt. Straub zeigte also, daß Muskarin nur während des Eindringens wirksam war und daß dieses Eindringen durch Atropin gehemmt wurde. — Auch die Aufnahme von Acetylcholin durch das Kaninchenherz wird durch Atropin gehemmt, wie Genuit und Junker[4] neuerdings nachwiesen; sie fanden aber auch eine Hemmung der Einwanderung von Acetylcholin durch Tannin, ohne daß die Acetylcholinwirkung litt, und lehnen die Herabsetzung der Permeabilität als Ursache der Atropingegenwirkung ab.

Ich prüfte die Aufnahme von Farbstoffen durch den Frosch oder das Herz. Es wurde ein Frosch von der Aorta bei angeschnittenen Vorhöfen mit einer Methylenblaulösung von 0,001% in Ringerscher Flüssigkeit (nach Zerstören von Gehirn und Rückenmark) durchströmt, sein Gewicht, die Durchflußmenge alle 5 Min. gemessen und die ausfließende Flüssigkeit mit dem Stufenphotometer kolorimetriert, und zwar bei Methylenblau mit dem Filter S 57. Erst wurde der Frosch 10 Min. lang

blutfrei gespült, dann 20 Min. lang mit der Farblösung durchströmt; in den folgenden 20 Min. war der Farblösung Atropin in verschiedener Konzentration zugesetzt; darauf wurde wieder auf reine Farblösung (ohne Atropin) umgeschaltet. Die Atropinkonzentrationen wurden in weiten Grenzen variiert: 0,1%; 0,01%; 0,001% = 0,0001% und 0,00001%. Von jeder Konzentration wurden 4 Versuche angestellt (s. Strecker[5]). Ich gebe von den in gleichem Sinne verlaufenen Versuchen nur die Durchschnittszahlen und auch diese nur für 20 Min. Auf die Ödembildung hatte Atropin keinen Einfluß, dagegen wurde die allmähliche Abnahme der Durchflußmenge durch Atropin fast ganz aufgehoben; es floß fast ebensoviel Flüssigkeit am Ende wie am Anfang durch den Frosch (in 20 Min. etwa 100 ccm). Die retinierte Farbstoffmenge betrug ungefähr 500 γ in 20 Min.

Durchflußmengen und retinierte Methylenblaumengen in 20 Min. in Prozent der Anfangsmenge:

(Methylenblau 0,001% in Ringer-Lösung; die mittleren Zahlen [von oben nach unten] mit Atropin; vorher und nachher reine Farblösung.)

Ohne Atropin:
Durchfluß: 100, 79, 80; retiniertes Methylenblau: 100, 84, 66.

Mit Atropin:

0,1%		0,01%		0,001%		0,0001%		0,00001%		
Durchfluß	Methylenblau retiniert	Durchfluß	Methylenblau retiniert	Durchfluß	Methylenblau retiniert	Durchfluß	Methylenblau retiniert	Durchfluß	Methylenblau retiniert	
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
96	**97**	**102**	**119**	**104**	**106**	**109**	**121**	**90**	**99**	(Atr.)
96	98	99	95	99	105	91	87	90	84	

Das schnelle Absinken der retinierten Farbstoffmengen wird also durch das Atropin aufgehoben, Atropin fördert die Aufnahme des Methylenblaus durch den Frosch vom Gefäßsystem aus; ob dabei die Gefäße durchlässiger werden oder die Speicherung vergrößert wird, bleibt unentschieden. (Cook* verlegt den Antagonismus von Methylenblau, das atropinähnlich wirkt, gegen Acetylcholin in die Oberfläche der Muskelzellen; die Färbung des Zellinnern sei nach Waschen der Oberfläche wirkungslos gegen Acetylcholin.)

b) Eosin. In gleicher Weise wurden die Versuche mit Eosin durchgeführt; beim Kolorimetrieren wurde Filter 53 angewandt. Die retinierten Mengen betrugen für Eosin am Anfang in 20 Min. über 2 mg.

* Cook: J. Physiol. **62**, 160 (1926). — Ber. Physiol. **40**, 156 (1927).

(Eosin 0,01% in RINGER-Lösung; die mittleren Zahlen [von oben nach unten] mit Atropin. Durchflußmengen und retinierte Eosinmengen in 20 Min.; alle Werte in Prozent der Anfangsmenge.)

Ohne Atropin:
Durchfluß: 100, 99, 97; retiniertes Eosin: 100, 57, 31.

Mit Atropin:

0,01%		0,001%		0,0001%		
Durchfluß	Eosin retiniert	Durchfluß	Eosin retiniert	Durchfluß	Eosin retiniert	
100	100	100	100	100	100	
83	**63**	**102**	**57**	**104**	**64**	(Atr.)
92	53	99	30	90	26	

Auf die Retention von Eosin fehlt jeder Einfluß des Atropinzusatzes; die retinierten Mengen Eosin sinken wie ohne Atropin stark ab.

Zur Kontrolle wurden noch je vier Versuche mit Kurare 0,4 mg-% (an Stelle von Atropin) vorgenommen und die Retention von Methylenblau und Eosin in der gleichen Weise beobachtet. Durchflußmengen und retinierte Farbstoffmengen in 20 Min. in Prozent der Anfangswerte. Durchschnitt aus 4 Versuchen:

Methylenblau 0,001%:
Die mittleren Zahlen (von oben nach unten) mit Kurare 0,4 mg-%:

Durchfluß	retiniertes Methylenblau	
100	100	
88	**65**	(Kurare)
83	59	

Eosin 0,01%:
Die mittleren Zahlen (von oben nach unten) mit Kurare 0,4 mg-%:

Durchfluß	retiniertes Eosin	
100	100	
102	**63**	(Kurare)
102	53	

Kurare hat also keinen Einfluß auf die Retention dieser Farbstoffe.

c) Methylviolett. Um außer einem basischen (Methylenblau) und einem sauren (Eosin) Farbstoffe noch einen zu prüfen, bei dem vielleicht

Durchfluß und retinierte Mengen in 20 Min.; die mittleren Zahlen mit Atropin (von oben nach unten); alle Werte in Prozent der Anfangswerte:

0		0,01%		0,001%		0,0001%		
Durchfluß	Methylviolett retiniert	Durchfluß	Methylviolett retiniert	Durchfluß	Methylviolett retiniert	Durchfluß	Methylviolett retiniert	
				Methylviolett 0,01%:				
100	100	100	100	100	100	100	100	
69	**95**	**58**	**93**	**68**	**96**	**59**	**95**	(Atropin)
44	88	45	85	48	97	37	80	
				Methylviolett 0,005%:				
100	100	100	100	100	100	100	100	
77	**94**	**82**	**91**	**80**	**88**	**55**	**95**	(Atropin)
57	91	55	92	57	90	40	97	
				Methylviolett 0,0025%:				
100	100	100	100	100	100	100	100	
92	**97**	**72**	**96**	**81**	**100**	**97**	**99**	(Atropin)
77	93	59	88	80	95	90	95	

die Adsorption an Oberflächen das maßgebende Moment ist (es scheint nach dem Ausfall der Versuche nicht so zu sein), wurde in ähnlicher Weise Methylviolett untersucht, und zwar in verschiedenen Konzentrationen (s. MARGARETE MEYER[6]). Auch die Konzentration von Atropin wurde stark verschieden gewählt. Kolorimetriert wurde mit Filter 57. Durchschnittszahlen aus je 4 Versuchen.

Ein Einfluß der Atropinbeigabe ist bei der Aufnahme von Methylviolett kaum festzustellen. Die absoluten Zahlen der Farbaufnahme in 20 Min. waren im Durchschnitt aus 4 Versuchen 0,005% (die mittleren Zahlen mit Atropin).

Atropin			
0	0,01%	0.001%	0,0001%
4,38 mg	4,34 mg	4,18 mg	4.43 mg
4,13	**3,96**	**3,66**	**4,22** (Atropin)
3,97	4,00	3,74	4,28

Vergleicht man die Farbaufnahme bei verschiedener Methylviolettkonzentration in den ersten 20 Min. jeden Versuches, wo sie also durch Atropin noch nicht beeinflußt war, so ergibt sich im Durchschnitt aus 4 Versuchen:

8,823 mg (= 100%) . . . . . bei 0,01% Methylviolett
4,3305 mg (= 49%) . . . . . bei 0,005% Methylviolett
2,2005 mg (= 25%) . . . . . bei 0,0025% Methylviolett.

Ohne Rücksicht auf den Atropinzusatz ergeben sich im Durchschnitt hintereinander die Werte (mg retiniert in 20 Min.):

0,01% Methylviolett:
8,825 (= 100%) — 8,345 (= 95%) — 7,617 (= 86%); zus. 24,787 mg (=100%).
0,005% Methylviolett:
4,3305 (=100%) — 3,993 (= 92%) — 3,998 (= 92%); zus. 12,321 mg (=50%).
0,0025% Methylviolett:
2,2005 (= 100%) — 2,155 (= 98%) — 2,040 (= 93%); zus. 6,395 mg (=26%).

Die Farbaufnahme findet also proportional der angebotenen Konzentration statt, ob mit Atropin oder ohne Atropin. Dies Verhalten spricht gegen eine Adsorption. Die Aufnahme sinkt mit der Zeit, am schnellsten bei den konzentrierten Lösungen.

Methylviolett und Durchfluß.

Vergleicht man die durchgeflossenen Mengen bei verschiedenen Konzentrationen von Methylviolett, so ergeben sich als Durchschnittswerte aus je 4 Versuchen:

0,01% Methylviolett:
30 ccm (= 100%) — 20 ccm (= 65%) — 13 ccm (= 43%).

0,005% Methylviolett:
28 ccm (= 100%) — 22 ccm (= 79%) — 16 ccm (= 56%).

0,0025% Methylviolett:
34 ccm (= 100%) — 30 ccm (= 88%) — 26 ccm (= 76%).

Es bewirkt also Methylviolett eine Verminderung des Durchflusses, in höheren Konzentrationen stärker als in niederen.

Es hat sich also am durchströmten Frosch nur bei Methylenblau eine Wirkung in förderndem Sinne ergeben, bei Eosin und Methylviolett dagegen war eine Beeinflussung der Farbaufnahme durch Atropinzusatz nicht vorhanden. Eine permeabilitätsvermindernde Wirkung kommt also im allgemeinen dem Atropin nicht zu.

2. Am Herzen.

a) Von außen. Die Aufnahme von Giften durch das Froschherz erfolgt von außen langsamer als von innen. Eine solche Versuchsanordnung hat den Vorteil, daß größere Flüssigkeitsmengen zum Kolorimetrieren zur Verfügung stehen, als es der Inhalt einer STRAUB-Kanüle ist. Und zwar schlug das Herz in einer Küvette von 1 cm lichter Weite und 12 ccm Inhalt. Die Herzspitze war am tiefsten Punkt eines U-förmig gebogenen Hebels mit einem Faden fixiert und schlug in der Küvettenflüssigkeit. Als Farbstoff wurde Methylviolett angewandt, das mit Filter S 57 kolorimetriert wurde. Die Farbbestimmung fand nach verschieden langer Zeit statt, entweder wenn das Herz noch schlug oder direkt nach dem Stillstand. Die Werte streuen nicht allzusehr, obgleich die Herzen sehr verschieden groß waren; sie wurden nach dem Versuch jedesmal gewogen. Die Zahlen sind Durchschnittswerte der aufgenommenen γ; Atropin war in der Endlösung zu 0,01% enthalten (s. GRIEPENTROP[7]).

Nach Methylviolett.

	0,625 mg-%		1,25 mg-%		1,25 mg-% + Atropin		2,5 mg-%	
5 Min.	9 γ	(5 Vers.)			26 γ	(2 Vers.)	31 γ	(1 Vers.)
7 Min.			33 γ	(2 Vers.)				
10 Min.	11 γ	(4 Vers.)			33 γ	(2 Vers.)	55 γ	(1 Vers.)
15 Min.	14 γ	(6 Vers.)	40 γ	(2 Vers.)	39 γ	(2 Vers.)		
20 Min.	14 γ	(4 Vers.)			41 γ	(2 Vers.)		
25 Min.	16 γ	(3 Vers.)	49 γ	(2 Vers.)	42 γ	(1 Vers.)	70 γ	(2 Vers.)
30 Min.	14 γ	(3 Vers.)					61 γ	(4 Vers.)
35 Min.	16 γ	(1 Vers.)	53 γ	(2 Vers.)				
40 Min.	17 γ	(1 Vers.)						
60 Min.			57 γ	(1 Vers.)	49 γ	(1 Vers.)	98 γ	(1 Vers.)

Es wird also aus einer konzentrierten Lösung mehr aufgenommen als aus der verdünnten; aber es wird auch bei verdünnten Lösungen nur eine gewisse Beladung erreicht, obwohl das Herz noch mehr Farbe aufnehmen

könnte, wie aus den Versuchen mit konzentrierteren Lösungen hervorgeht. Um eine Adsorption kann es sich aber dabei nicht handeln, sonst müßte die Farbaufnahme aus den dünnen Lösungen größer sein.

Der Zusatz von Atropin (0,01%) zu den Lösungen von Methylviolett von 0,00125% hat kaum einen Einfluß auf die Aufnahme des Farbstoffes.

b) Von innen. Von einem Herzen, das an einer STRAUBschen Kanüle mit 2 ccm Inhalt schlug, wurde eine Methylviolettlösung von 0,0025% ohne Atropin durchschnittlich in 12,3 Min. entfärbt, mit einem Atropinzusatz von 0,01% nach 14,3 Min. — Um mehr Flüssigkeit zum Kolorimetrieren zu erhalten, wird die Kammer des Froschherzens auf eine doppelläufige Kanüle aufgebunden und in 5 Min. mit 5 ccm RINGER-Lösung durchspült, was durch Drosselung des Flüssigkeitstromes hinter dem Herzen durch eine Kapillare erreicht wurde. Gereizt wurde 32mal in der Minute mit Öffnungsschlägen (unter Abblendung der Schließungsschläge); letzteres geschah durch eine elektrisch betriebene Nockenwelle, die die Schließung und Öffnung im primären und sekundären Strom besorgte. Die Mehrzahl der Versuche konnte bis 60 Min. ausgedehnt werden. Es wurden ohne Atropin im Durchschnitt von 7 Versuchen 312 γ (37,4% des Angebots) retiniert, mit Atropin ebenfalls im Durchschnitt von 7 Versuchen 293 γ (= 36,4% des Angebots). Es findet also kaum eine Hemmung der Aufnahme des Methylvioletts statt, wenn man Atropin zusetzt (s. RIECKHOFF[8]).

Aus dünneren Lösungen von Methylviolett wird bei derselben Versuchsanordnung weniger aufgenommen, was gegen eine Adsorption spricht. Aus einer Arbeit von EDITH SCHNEIDER[9], in welcher der Einfluß von Strophanthin auf die Retention von Methylviolett untersucht wurde, geht hervor, daß in solchen dünnen Farblösungen die Retention sehr viel geringer ist; dabei fördert Strophanthin die Aufnahme von Methylviolett durch die Kammer erheblich.

Ohne Strophanthin	Mit Strophanthin 0,025 mg-%	Mit Strophanthin 0,05 mg-%
	Aus Methylviolett 0,000625%:	
57,7 γ (g Kammer = 1,12 γ)	97,9 γ (g Kammer = 2,04 γ)	91,22 γ (Kammer = 2,68 γ)
	Aus Methylviolett 0,00125%:	
69,49 γ (Kammer = 1,34 γ)	115,42 γ (Kammer = 2,68 γ)	130,56 γ (g Kammer = 2,96 γ)

Es findet also durch Atropin keine ins Gewicht fallende Beeinflussung der Aufnahme verschiedener Farbstoffe statt; nur Methylenblau wird vom Gefäßsystem des Frosches unter Atropin besser gespeichert.

D. Wirkung des Atropins auf die Cholinesterase.

1. Selbst.

Um eine Wirkung des Atropins auf die Esterase, die das entstehende Acetylcholin verseift, festzustellen, habe ich die Kohlensäureentwicklung im BARCROFTschen Apparat bestimmt.

Ringer-Lösung: 100 ccm 0,9% NaCl; 40 ccm 0,26% $NaHCO_3$; 2 ccm 1,2% KCl; 2 ccm 1,76% $CaCl_2$ (Riechert und Wieland[10]). Als Gasgemisch diente eine 5% CO_2 enthaltende Luft. Temperatur 37°. Beispiel: In beide Birnen wurde 1,5 ccm 0,5% Acetylcholin in Ringer gegeben, ferner 0,2 ccm Atropinlösung (0,1%). Dazu kam in den Ansatz des einen Gefäßes 0,3 ccm des Blutegelextraktes (4 ccm Ringer auf einen Egel), in den Ansatz des anderen 0,3 ccm Ringer-Lösung. In den Kontrollen wurde statt Atropinlösung die gleiche Menge Ringer-Flüssigkeit gegeben. In jedem Versuch wurde in demselben Wasserbad und an derselben Schüttelvorrichtung gleichzeitig eine Kontrolle der Zersetzung von Acetylcholin durch den Blutegelextrakt (ohne Atropin) beobachtet und alle 5 Min. abgelesen; z. B. in cmm Gas:

Kontrolle: 104 236 330 400 468 522; Atropin: 60 234 339 430 620 650
Oder: 87 230 355 455 600 700; Atropin: 161 325 460 580 710 830

oben = 124%, unten = 118%.

Im folgenden sind nur die Gasentwickelungen nach 30 Min. angegeben und in Prozent der Kontrollen ausgedrückt (Kontrolle = 100%), je zwei Versuche:

Atropin in der Endlösung:

0,001%	0,01%	0,015%	0.1%
110%	118%	111%	116%
114%	112%	113%	121%

Außerdem wurden noch weitere Versuche mit 0,01% Atropin angestellt; sie ergaben: 134%; 124%; 118%; 119%; 92%; 109%; Durchschnitt aller Versuche mit 0,01% Atropin = 116%. — Atropin wird ebenfalls durch Blutegelextrakt etwas verseift: 1,5 ccm Atropin (0,1%) + 0,3 ccm Ringer; dazu 0,3 ccm Extrakt. Gegengefäß ebenso, nur statt Extrakt Ringer. Zweiter Apparat mit Acetylcholin. Nach 30 Min. bei der Atropinlösung 48 cmm Gas gegen die Kontrolle mit Acetylcholin 600 cmm, also 8%. Zweiter Versuch 33 gegen 552 cmm, also 6%. Es ist also im Blutegelextrakt auch etwas Atropinesterase enthalten (s. Glick und Blaubach[11]).

Atropin hat also keinen Einfluß auf die Verseifung des Acetylcholins.

2. Beeinflussung der Physostigminhemmung durch Atropinzusatz.

Physostigmin hemmt bekanntlich die Esterasewirkung; es fragt sich, ob etwa Atropinzusatz diese Hemmung beeinflußt. Die Anordnung blieb die gleiche wie vorher, nur daß außer Atropin auch Physostigmin (in 0,1 ccm) zugesetzt wurde.

Kohlensäureentwicklung in Prozent der Kontrolle ohne Physostigmin; in Klammern die Parallelversuche mit Physostigmin allein; zwei Versuchsreihen:

Physostigmin			
50 γ-%	5 γ-%	0,5 γ-%	0,05 γ-%
4,5% (6,5%)	39,5% (33,6%)	47% (47%)	92% (84%)
7% (7%)	38,6% (33,4%)	46% (46%)	95% (95%)

In allen Versuchen betrug der Atropinzusatz 0,01% in der Endlösung. Atropinzusatz ist also ohne Einfluß auf die Esterasehemmung durch Physostigmin.

E. Komplexbildung von Atropin und Acetylcholin.

1. Gefrierpunkt.

Liegt eine Komplexverbindung vor, so liegt ihr Gefrierpunkt näher an Null als die halbe Summe der Gefrierpunkte der Komponenten. Liegt er tiefer unter Null, so ist bei den Salzen durch Verdünnen der einen Lösung durch die andere eine weitere Dissoziation eingetreten. Das letztere ist hier der Fall.

Stoff	molar	Δ	Diss. zu
Atropinsulfat 6,98%	m/9,94	— 0,47°	253%
Acetylcholinchlorid 3,63%	m/5	— 0,72°	194%
Acetylcholinchlorid 1,815%	m/10	— 0,40°	210%
Atropinsulfat 6,98%	m/19,89		
Acethylcholinchlorid 3,63% aa	m/10 zus. = m/6,65	— 0,68°	(244%)
Atropinsulfat 6,98%	m/19,89		
Acetylcholinchlorid 1,815% aa	m/20 zus. = m/9,93	— 0,48°	(259%)
Cholinchlorid 13,95%	m/1	— 3,62°	195%
Cholinchlorid 2,79%	m/5	— 0,70°	189%
Cholinchlorid 1,395%	m/10	— 0,36°	194%
Atropinsulfat 6,98%	m/19,89		
Cholinchlorid 2,79% aa	m/10 zus. = m/6,65	— 0,62°	(230%)
Atropinsulfat 6,98%	m/19,89		
Cholinchlorid 1,395% aa	m/20 zus. = m/9,97	— 0,46°	(248%)

Es liegen also alle Gefrierpunkte der Mischungen tiefer unter Null als die Summe der halben Gefrierpunktserniedrigungen der Komponenten. Es hat also in keinem Fall eine Komplexbildung mit Verringerung der Teilchenzahl stattgefunden. Wegen der Verdünnung der einen Lösung durch die zweite nimmt die Dissoziation etwas zu, wobei Atropinsulfat etwa in $2^1/_2$ Teile, Acetylcholinchlorid und Cholinchlorid in zwei Teile zerfallen. Weil Atropinsulfat zwei Moleküle Atropin enthält, so wurde einmal 1 Mol Atropinsulfat mit 1 Mol Acetylcholin, das andere Mal mit 2 Molen Acetylcholin versetzt; das gleiche gilt für Cholin.

Nach dem Verhalten des Gefrierpunktes ist also eine Komplexbildung von Acetylcholin und Atropin ausgeschlossen.

2. Mol-Volumen.

Das Mol-Volumen setzt sich nach TRAUBE[12] aus dem Volumen der Moleküle selbst und einem Co-Volumen zusammen, welches jedes Molekül in Lösung beansprucht und welches ungefähr 12,5 ccm beträgt.

Bei der Mischung zweier Stoffe kann man feststellen, ob jeder ein Co-Volumen aufweist — dann ist ein Gemisch — oder ob beide zusammen nur ein Co-Volumen haben — dann ist ein Komplex eingetreten.

Die Bestimmung des Volumens geschieht in der Weise, daß man vom spezifischen Gewicht des Liters der Lösung das Gewicht des gelösten Stoffes abzieht, dann erhält man die Gramm Wasser im Liter; dies durch das spezifische Gewicht des Wassers dividiert, ergibt die Kubikzentimeter Wasser im Liter Lösung; diese zieht man von 1000 ccm ab und erhält so das Volumen des gelösten Stoffes. — Aus den Traubeschen Zahlen kann man andererseits das Molekularvolumen berechnen und von dem gefundenen abziehen, dann resultiert das Co-Volumen.

Eine 6,98%ige Lösung von Atropinsulfat enthält im Liter (ohne Kristallwasser) 67,99 g; dies vom Gewicht eines Liters der Lösung abgezogen (spezifisches Gewicht 1,11694) ergibt 948,95 g Wasser = 949,776 ccm Wasser. Also bleibt für das Atropinsulfat 50,224 ccm. Dies ist das Volumen bei einer m/9,9427-Lösung, also beträgt das Mol-Volumen 499,36 ccm. — Diesem gefundenen Mol-Volumen stellt man das nach Traube berechnete gegenüber. Dies berechnet sich für Atropinsulfat zu 17 C (9,9) = 168,3; 23 H (3,1) = 71,3; N = 1,5; O (in OH 2,3) = 2,3; 2 O (O = 5,5) = 11,0; zusammen 254,4; davon ab Benzolring (— 8,1) = 246,3. Zwei solche Atropinmoleküle sind im Sulfat = 492,6; dazu Schwefelsäure: S = 11,0; 2 H = 6,2; 4 O (O in OH 0,4); denn es gibt in der Schwefelsäure keine Doppelbindungen zwischen S und O, wie die Valenzlehre annimmt, sondern es handelt sich um eine semipolare Bindung (Müller[13]) = 1,6; zusammen 18,8. Atropinsulfat würde also das Mol-Volumen von 511,4 ccm haben; davon gehen die beiden Dissoziationen mit je 13,5 ab, also — 27,0 ccm. Das Mol-Volumen berechnet sich also zu 484,4. — Gefunden wurde 499,36 ccm; die Differenz zwischen gefundenen und berechneten Mol-Volumen ergibt das Co-Volumen von 14,96 ccm.

Ebenso wurden die Co-Volumina der anderen Stoffe ausgerechnet und bestimmt. Der Stickstoff im Cholin und Acetylcholin ist fünfwertig = 14,0. Das Atomvolumen des Chlors beträgt 13,2. Das Mol-Volumen des Acetylcholinchlorids berechnet sich zu 144,6; das des Cholinchlorids zu 109,9 ccm.

Als Beispiel für die Kombination der beiden Salze diene die Mischung von einer 6,89%igen Atropinsulfatlösung (= m/9,94) und einer 1,815%igen Acetylcholinchloridlösung (m/10) zu gleichen Teilen. Ihr spezifisches Gewicht ist 1,00938; nach Abzug der Salze (643,065 g im Liter) bleiben 966,315 g Wasser = 967,157 ccm Wasser. Es entfallen also auf das Volumen der Salze 32,843 ccm. — Berechnet man nun das Volumen aus den Traubeschen Zahlen, so hat eine m/19,89 Atropinlösung (bei einem berechneten Mol-Volumen von 484,4 ccm) ein Volumen von 24,36 ccm und eine m/20 Acetylcholin-Lösung (bei einem berechneten Mol-Volumen von 144,6 ccm) ein Volumen von 7,23 ccm; die Salze zusammen also ein solches von 31,59 ccm. Es bleibt also durch Abzug bes berechneten Volumens (31,59) vom gefundenen (32,843 ccm) für das Co-Volumen 1,253 ccm. Dies entfällt auf eine m/19,89 + m/20-Lösung, also auf eine Lösung von insgesamt m/9,971; beträgt daher 12,49 ccm je Mol der beiden Salze.

Es kommt also jedem Mol in der Lösung, auch in Gemischen ein Co-Volumen zu; eine Komplexbildung ist also nicht eingetreten, wodurch das Co-Volumen vermindert würde und bei vollständigem Zusammentreten der beiden Stoffe pro Mol nur die Hälfte betragen würde.

Co-Volumina für jedes Mol der in die Lösung getanen Mole.

Stoff	Co-Volumen	spezifisches Gewicht
6,98% Atropinsulfat	14,96	1,01694
3,63% Acetylcholinchlorid	11,94	1,00415
1,815% Acetylcholinchlorid	12,94	1,00154
6,98% Atropinsulfat 1,1815% Acetylcholinchlorid āā	12,49	1,00938
6,98% Atropinsulfat 3,63% Acetylcholinchlorid āā	13,30	1,01049
13,95% Cholinchlorid	13,30	1,01554
1,395% Cholinchlorid	12,40	1,00078
2,79% Cholinchlorid	13,96	1,00228
6,98% Atropinsulfat 1,395% Cholinchlorid āā	15,07	1,00876
6,98% Atropinsulfat 2,79% Cholinchlorid āā	15,34	1,00945

Wegen der zwei Moleküle Atropin, die im Sulfat enthalten sind, wurden wieder zwei Konzentrationen des anderen Partners verwandt, eine entsprechend einem Mol Atropinsulfat, die andere entsprechend einem Mol der Atropinbase.

3. Mol-Refraktion.

Die Mol-Refraktion ist ein Ausdruck für das Volumen der Moleküle und setzt sich additiv aus der Atomrefraktion zusammen; nur stärkere chemische Veränderungen machen Abweichungen vom additiven Verhalten, wie etwa Doppelbindungen. Bei unseren Stoffen und deren Mischungen ist ein Abweichen vom additiven Verhalten unwahrscheinlich.

Im folgenden sind die Molekularrefraktionen experimentell bestimmt worden und mit den Zahlen nach LANDOLT-BÖRNSTEIN, Bd. II, S. 956, verglichen worden. Der Berechnungsexponent wurde mit dem ZEISSschen Eintauchrefraktometer bei 15° bestimmt und bei derselben Temperatur das spezifische Gewicht mit dem OSTWALDschen Pyknometer. Die Molekularrefraktion wurde nach der Formel von LORENTZ und LORENZ gefunden $(n^2—1)/(n^2 + 2)$ mal Molekulargewicht dividiert durch das spezifische Gewicht. Bei einer Lösung verfährt man folgendermaßen: Man bestimmt das spezifische Gewicht der Lösung und die Refraktion und setzt für Molekulargewicht das durchschnittliche Molekulargewicht ein, d. h. den Durchschnitt des Molekulargewichtes von Wasser und gelöster Substanz. Hat man z. B. eine molare Lösung, so zieht man vom Gewicht eines Liters das Gewicht der gelösten Substanz ab und erhält so das Gewicht des Wassers in der Lösung. Dies ergibt dividiert durch 18 die Wassermole. Dazu wird ein Mol Salz (bei molarer Lösung) dazugezählt. Damit dividiert man das Gewicht des Liters Lösung und erhält so das durchschnittliche Molekulargewicht. Mit diesem wird der obige

Quotient des Brechungsexponenten der Lösung multipliziert und durch das spezifische Gewicht der Lösung dividiert. So erhält man die Mol-Refraktion der Lösung. Zieht man von der Mol-Refraktion der Lösung die des Wassers ab, so erhält man die Mol-Refraktion des gelösten Stoffes und kann diese mit der aus den Tabellen errechneten Zahl vergleichen. Denn die Refraktion der Lösung setzt sich aus derjenigen des Wassers und der des gelösten Stoffes zusammen, natürlich anteilmäßig nach der Zahl der Mole. Also ist die Mol-Refraktion der Lösung gleich der Mol-Refraktion des gelösten Stoffes mal der Molenzahl des gelösten Stoffes plus der Mol-Refraktion des Wassers mal seiner Molenzahl; diese Summe wird durch die Gesamtmolenzahl dividiert. — Bei der Mischung von zwei Stoffen in der Lösung verfährt man ebenso; nur setzt man die Mol-Refraktionen von Atropin und Acetylcholin (aus den Tabellen berechnet) für die Einzel-Mol-Refraktionen ein und vergleicht dann diese Summe mit der aus der Lösung gefundenen. Dabei ist zu bemerken, daß man aus der Differenz zweier großer Zahlen (um 200 herum) eine kleine, häufig einstellige Zahl erhält, die man z. B. bei m/20-Lösungen mit 20 multipliziert, um die Mol-Refraktion zu erhalten. Die Übereinstimmung ist überraschend.

Es wird zunächst die Mol-Refraktion von Atropinsulfat bestimmt; eine 6,98%-ige Lösung (= m/9,9427) enthält (ohne Kristallwasser) 6,799%. Diese Salzmenge vom Gewicht des Liters (= 1016, 94) abgezogen bleibt für Wasser 948,95 g = 52,719 Mole Wasser, mit den Molen des gelösten Stoffes zusammen also 52,82 Mole; daher beträgt das durchschnittliche Molekulargewicht (1016, 94/52,82) 19,253. Der Quotient des Brechungsexponenten (1,34556) ist 0,21276. Multipliziert mit dem durchschnittlichen Molekulargewicht und dividiert durch das spezifische Gewicht ergibt 4,0280. Dieser Wert muß gleich sein der Summe der Mol-Refraktionen des Atropinsulfates (x/9,9427) + der Mol-Refraktion des Wassers (n = 1,33339 und spezifisches Gewicht 0,99913) = 3,7096mal 52,719 dividiert durch die Gesamtmolenzahl (oder man multipliziert für die Rechnung die ganze Gleichung mit der Gesamtmolenzahl): $4{,}0280 \cdot 52{,}82 = x/9{,}9427 + 3{,}7096 \cdot 52{,}719$. Dies ergibt für $x/9{,}9427 = 212{,}758 - 195{,}555 = 17{,}204$; also $x = 171{,}024$. Dies ist die gefundene Mol-Refraktion, die man mit der nach Landolt-Börnstein berechneten vergleichen kann. (Für die Schwefelsäure wurde die Mol-Refraktion nach Landolt-Börnstein, Bd. II, S. 991, zu 15,187 berechnet [n = 1,42772; spezifisches Gewicht 1,84167]). Es berechnet sich also die Mol-Refraktion des Atropinsulfats zu 174,835 gegenüber der gefundenen von 171,024; demnach wurden 97,8% gefunden.

Bei den Gemischen ergibt sich die Refraktion der Lösung wieder aus ihren Brechungsexponenten und ihrem spezifischen Gewicht; diese soll gleich der berechneten Anteile der beiden Salze und des Wassers sein. Bei 6,98% Atropinsulfat (m/9,9427) + 3,63% Acetylcholinchlorid (m/5) zu gleichen Teilen (also bei jeweils der Hälfte der Konzentration) ist der Quotient des Brechungsexponenten (n = 1,3417) = 0,21111; dies gibt multipliziert mit dem durchschnittlichen Molekulargewicht (in der Lösung sind 958,345 g Wasser = 53,241 Mole Wasser + 0,05 Mole Atropinsulfat und 0,1 Mole Acetylcholinchlorid, also im ganzen 53,391 Mole) von 18,963 und dividiert durch das spezifische Gewicht (1,01149) $3{,}7096 \times 53{,}241$. Dies ist die gefundene Refraktion. — Berechnet wird sie anteilmäßig aus der Refraktion des Atropinsulfats mal seiner Molenzahl (174,853/19,8854) plus

der des Acetylcholinchlorids (647,218/10) plus der des Wassers (3,7096 · 53,241). Diese Summe muß durch die Gesamtmolenzahl dividiert werden (oder man multipliziert beide Seiten der Gleichung, d. h. auch die Refraktion der Lösung mit dieser Gesamtmolenzahl von 53,391); dann kann man den berechneten Anteil des Wassers von diesem Wert abziehen und erhält so die Refraktion, die auf die beiden Salze entfällt, auf der rechten Seite der Gleichung. Also 3,9617 · 53,391 = 174,835/19.8854 + 47,218/10 + 3,7096 · 53,241 oder 14,016 = 13,514, d. h. der gefundene Wert der Refraktion ist gleich dem berechneten.

Mol-Refraktionen.

	Gefunden	Berechnet	Gefunden	Fehler
6,98% Atropinsulfat	171,024	174,835	97,8%	2,1%
3,63% Acetylcholinchlorid	47,390	47,218	100,36%	0,36%
1,815% Acetylcholinchlorid	45,319	47,218	95,9%	4,0%
6,98% Atropinsulfat				
3,63% Acetylcholinchlorid ää	14,016	13,514	103,7%	3,7%
	(211,519)	(211,017)	(100,24%)	(0,24%)
6,98% Atropinsulfat				
1,815% Acetylcholinchlorid ää	11,639	11,1529	104,3%	4,3%
	(210,785)	(210,299)	(100,23%)	(0,23%)
13,95% Cholinchlorid	37,039	37,853	97,8%	2,1%
2,79% Cholinchlorid	36,770	37,853	97,1%	2,4%
1,395% Cholinchlorid	36,82	37,853	97,3%	2,7%
6,98% Atropinsulfat				
1,395% Cholinchlorid ää	10,937	10,685	102,3%	2,3%
	(210,387)	(210,135)	(100,12%)	(0,12%)
6,98% Atropinsulfat				
2,79% Cholinchlorid ää	12,036	12,577	95,7%	4,3%
	(210,192)	(210,753)	(99,7%)	(0,29%)

(Die Zahlen in Klammern geben die Summenzahlen auf beiden Seiten der Gleichung, aus denen sich die Mol-Refraktionen berechnen.)

Die gefundenen Zahlen für n und die spezifischen Gewichte, aus denen sich obige Werte berechnen, sind folgende:

	$15°$ n_D	spezifisches Gewicht
6,98% Atropinsulfat	1,34556	1,01694
3,63% Acetylcholinchlorid	1,33843	1,00415
1,815% Acetylcholinchlorid	1,33640	1,00154
6,98% Atropinsulfat		
1,815% Acetylcholinchlorid ää	1,34207	1,00938
6,98% Atropinsulfat		
3,63% Acetylcholinchlorid ää	1,34317	1,01049
13,95% Cholinchlorid	1,35399	1,01554
1,395% Cholinchlorid	1,33543	1,00078
2,79% Cholinchlorid	1,33743	1,00228
6,98% Atropinsulfat		
1,395% Cholinchlorid ää	1,34158	1,00876
6,98% Atropinsulfat		
2,79% Cholinchlorid ää	1,34143	1,00945

Wegen des Gehaltes des Atropinsulfats an zwei Molekülen Atropin wurde die Konzentration des anderen Partners verändert, so daß einmal 1 Mol Acetylcholin auf 1 Mol Atropinsulfat, das andere Mal 1 Mol Acetylcholin auf 1 Mol Atropinbase entfällt; das gleiche gilt für Cholin.

Es stimmen also die gefundenen Mol-Refraktionen der gelösten Stoffe mit den Zahlen der Tabelle von LANDOLT-BÖRNSTEIN überein und auch die Summe der Mol-Refraktionen ist additiv errechenbar; es können also größere chemische Umsetzungen nicht stattgefunden haben, wie ja zu erwarten war. (Methodisch ist es vielleicht nicht ohne Interesse, daß sich Gemische von Lösungen auf diese Art berechnen lassen.)

F. Tanninfällung.

Es gibt also eine chemisch-physikalische Beeinflussung des Acetylcholins durch Atropin, die sich überall geltend machen würde, nicht.

Vom physiologischen Standpunkte aus kann ebenfalls eine allgemeine Beeinflussung der beiden Stoffe ausgeschlossen werden; denn die eigentlich spezifische Gegenwirkung des Atropins gegen Acetylcholin findet nur an den parasympathischen Nervenenden statt, und erst in ungeheurer Konzentration oder gar nicht an anderen Stellen, wo Acetylcholin entsteht und wirkt. — Es muß also noch eine bestimmte Beschaffenheit des physiologischen Substrates dazukommen, um eine gegenseitige Beeinflussung auszulösen, etwa eine besondere Beschaffenheit von Grenzflächen (s. unten) oder die Einwirkung eines dritten Stoffes.

Daß ein solcher Einfluß beim Dazutreten eines dritten Stoffes sich zeigen kann, dafür führe ich die Beeinflussung der Tanninfällung des Atropins durch Zusatz von Acetylcholin an. Gibt man zu einer Atropinlösung 10%iges Tannin hinzu, so tritt zuerst eine Fällung auf, die auf weiteren Zusatz von Tannin wieder verschwindet. Setzt man Acetylcholin dazu, so tritt die Trübung schon bei geringeren Tanninmengen auf; ebenso ist die Wiederauflösung dieser Fällung schon durch geringeren Überschuß von Tannin zu erreichen. Ebenso verhält sich Cholin.

Titriert man mit 10% Tannin, so tritt erst Trübung, dann Wiederauflösen ein = nach Zusatz von Kubikzentimeter Tanninlösung:

0,5 ccm Atropinsulfat m/10 + 0,5 ccm Cholinchlorid — *Atropin allein*

Cholinchlorid	molar	m/5	m/10	0
Trübung max.	keine Trübung	0,23	0,4	0,52 ccm Tannin
Wieder klar	dauernd klar	1,8	3,0	4,0 ccm Tannin

0,5 ccm Atropinsufat m/10 + 0,5 ccm Acetylcholinchlorid — *Atropin allein*

Acetylcholinchorid	m/5	m 10	0
Trübung max.	0,3	0,42	0,52 ccm Tannin
Wieder klar	1,5	2,0	4,0 ccm Tannin

Hier kann es sich nicht um eine Konkurrenz der beiden Stoffe um das Tannin handeln, da ja geringere Mengen von Tannin zur Auslösung der Erscheinungen, der Fällung sowohl wie der Wiederauflösung genügen. Jedenfalls läßt sich eine Beeinflussung der beiden Stoffe auch außerhalb des Körpers zeigen.

G. Grenzflächenspannung.

Aus den angeführten Gründen wurde die Grenzflächenspannung von Atropinlösungen und von Acetylcholinlösungen und ihrem Gemisch bestimmt, und zwar außer der Oberflächenspannung gegen Luft (die physiologisch wohl keine Rolle spielt), auch die gegen eine ölige Phase. Dabei verwandte ich als Öl Paraffin, dem ich aktive Substanzen, Lezithin oder Ölsäure, zusetzte, wie es SEELICH[14] getan hat. Es wurde die Tropfenzahl der wäßrigen Lösung in Luft und in Paraffin bestimmt, das vorher mit der wäßrigen Phase geschüttelt war, zum Einstellen des Verteilungsgleichgewichtes. Zum Vergleich wurden noch andere Gemische untersucht, und zwar antagonistische wie Atropin-Pilokarpin und nichtantagonistische wie Kodein-Atropin oder Kodein-Acetylcholin. Die Tropfenzahl wurde mit einem TRAUBEschen Stalagmometer bestimmt und die Tropfenzahl von etwa 10 ccm an einer darauf gesetzten Bürette, in $^1/_{50}$ ccm eingeteilt, abgelesen (und natürlich auf genau 10 ccm berechnet). Es wurde sorgfältig darauf geachtet, daß die Abtropffläche frei von Paraffin war und der Tropfen sich von der ganzen Fläche löste. Die Zahlen stellen das Mittel aus drei gut stimmenden Versuchen dar.

Als wäßrige Phase kam ein m/20-Puffergemisch von primärem und sekundärem Na-Phosphat aa (Ph = 7) zur Anwendung, in dem alle Stoffe gelöst wurden. Darin wurde auch 0,01% Lezithin gelöst; die Ölsäure (1 Tropfen) wurde dem Puffer-Paraffin-Gemisch, 50 ccm Pufferlösung plus 10 ccm Paraffin, zugesetzt. Die beiden oberflächenaltiven Substanzen kamen also in ungefähr m/1000-Lösung zur Verwendung. Von den Alkaloiden wurden als Stammlösungen m/50-Lösungen hergestellt, die entweder mit der Pufferlösung aa oder mit der Lösung des anderen Alkaloids aa zur Beobachtung kamen. Es wurde also schließlich mit m/100 Alkaloidlösungen gearbeitet. Jedesmal wurden 50 ccm der wäßrigen Lösung mit 10 ccm Paraffin 1 Min. lang geschüttelt, um das Verteilungsgleichgewicht zu erreichen, dann wurde die wäßrige Lösung nach dem Absetzen (eventuell Zentrifugieren) in das damit geschüttelte Paraffin getropft, einmal in reines Paraffin, sodann in solches, welches mit der Lezithinlösung geschüttelt war oder unter Zusatz von Ölsäure (1 Tropfen auf das Gemisch von 50 ccm Pufferlösung und 10 ccm Paraffin). Es wurde also die Oberflächenspannung der wäßrigen Phase gegen 3 verschiedene Ölphasen bestimmt, außerdem gegen Luft. — Atropinstammlösung = 1,388% Atropinsulfat in Pufferlösung = m/50; Acetylcholinstammlösung = 0,363% Acetylcholinchlorid in Phosphatpuffer = m/50; Kodeinchloridstammlösung 0,7% in Pufferlösung = m/50; Pilokarpinstammlösung = 0,54% Pilokarpinchlorid in Pufferlösung = m/50. — Das übrige ist aus den Tabellen zu ersehen, in der einen sind die Tropfen für 10 ccm angegeben, für die einzelnen Stoffe und für ihre Kombination, das andere Mal sind die Tropfenzahlen

in Prozent der jeweiligen wäßrigen Lösung ohne Alkaloid angegeben, also in Prozent der Tropfenzahl der Phosphatpufferlösung oder der mit Lezithin oder Ölsäure versetzen.

A. Antagonistische Mischung.

1. Acetylcholin-Atropin.

	Tropfenzahl auf 10 ccm							
	in Paraffin				in Luft			
	allein	+ Acetylcholin	+ Atropin	kombiniert	allein	+ Acetylcholin	+ Atropin	kombiniert
Phosphatpuffer	10,15	10,72	15,98	13,80	75,83	76,51	85,72	79,70
Lezith.-Phosphatpuffer	10,8	12,40	18,62	16,49	75,68	78,63	87,20	84,72
Öls.-Phosphatpuffer	15,04	17,35	28,38	27,60	75,74	83,17	79,62	105,85

2. Pilokarpin-Atropin.

	allein	+ Pilokarpin	+ Atropin	kombiniert	allein	+ Pilokarpin	+ Atropin	kombiniert
Phosphatpuffer	10,15	12,16	15,98	14,22	75,83	77,82	85,72	78,91
Lezith.-Phosphatpuffer	10,8	12,61	18,62	15,27	75,68	76,89	87,20	86,56
Öls.-Phosphatpuffer	15,04	19,10	28,38	28,45	75,74	76,93	79,62	79,22

B. Nichtantagonistische Mischung.

1. Acetylcholin-Kodein.

	allein	+ Acetylcholin	+ Kodein	kombiniert	allein	+ Acetylcholin	+ Kodein	kombiniert
Phosphatpuffer	10,15	10,72	15,91	13,18	75,83	76,51	76,64	77,18
Lezith.-Phosphatpuffer	10,8	12,40	15,30	12,62	75,68	78,63	79,63	76,62
Öls.-Phosphatpuffer	15,04	17,35	21,22	22,74	75,74	83,17	89,16	88,30

2. Pilokarpin-Kodein.

	allein	+ Pilokarpin	+ Kodein	kom. biniert	allein	+ Pilokarpin	+ Kodein	kombiniert
Phosphatpuffer	10,15	12,16	15,91	14,94	75,83	77,82	76,64	77,95
Lezith.-Phosphatpuffer	10,8	12,61	15,30	14,66	75,68	76,89	79,63	80,70
Öls.-Phosphatpuffer	15,04	19,10	21,22	21,30	75,74	76,93	89,16	79,44

A. Antagonistische Mischung.

1. Acetylcholin-Atropin.

	Tropfenzahl in % der Kontrolle							
	in Paraffin				in Luft			
	allein	+Acetylcholin	+Atropin	kombiniert	allein	+Acetylcholin	+Atropin	kombiniert
Phosphatpuffer	100,0	105,9	157,4	135,9	100,0	100,9	113,0	105,1
Lezith.-Phosphatpuffer	100,0	114,8	172,4	151,8	100,0	103,9	102,0	111,9
Öls.-Phosphatpuffer	100,0	115,3	188,7	183,5	100,0	109,8	105,1	139,8

2. Pilocarpin-Atropin.

	allein	+ Pilokarpin	+Atropin	kombiniert	allein	+ Pilokarpin	+Atropin	kombiniert
Phosphatpuffer	100,0	119,8	157,4	140,1	100,0	102,6	113,0	104,0
Lezith.-Phosphatpuffer	100,0	116,8	172,4	141,4	100,0	101,6	115,2	114,4
Öls.-Phosphatpuffer	100,0	126,9	188,7	189,1	100,0	101,6	105,1	104,6

B. Nichtantagonistische Mischung.

1. Acetylcholin-Kodein.

	allein	+Acetylcholin	+Kodein	kombiniert	allein	+Acetylcholin	+Kodein	kombiniert
Phosphatpuffer	100,0	105,9	156,7	129,8	100,0	100,9	101,5	101,8
Lezith.-Phosphatpuffer	100,0	114,8	141,7	116,9	100,0	103,9	105,2	101,2
Öls.-Phosphatpuffer	100,0	115,3	141,1	151,2	100,0	110,5	117,7	116,6

2. Pilokarpin-Kodein.

	allein	+ Pilokarpin	+ Kodein	kombiniert	allein	+Pilokarpin	+ Kodein	kombiniert
Phosphatpuffer	100,0	119,8	156,7	147,1	100,0	102,6	101,5	102,8
Lecith.-Phosphatpuffer	100,0	116,7	141,7	135,8	100,0	101,6	105,2	106,6
Öls.-Phosphatpuffer	100,0	126,9	141,1	141,6	100,0	101,6	117,7	104,9

Man sieht daraus, daß die Grenzflächenspannung einer Alkaloidlösung durch Zusatz eines zweiten Alkaloids stark beeinflußt werden kann. Die Kombination zweier oberflächenaktiver Substanzen müßte eine größere Erniedrigung der Oberflächenspannung zeigen als die einzelnen Lösungen, da ja beide Stoffe wirksam sind und die Tropfenzahl erhöhen. Dies ist aber keineswegs immer der Fall, im Gegenteil sehr häufig liegen die Tropfenzahlen der Kombination in der Mitte zwischen

beiden: dann muß der wirksamere Körper zum Teil durch den unwirksameren verdrängt worden sein. Acetylcholin (und auch Pilokarpin) sind wenig oberflächenaktiv und werden durch das stark in die Grenzflächen drängende Atropin vertrieben. Es kann also auf diese Weise ein Übertritt des Acetylcholins in eine andere Phase gehemmt werden. Dies Verhalten könnte zur Erklärung des Antagonismus Acetylcholin-Atropin herangezogen werden. (Liegt die Tropfenzahl der Kombination höher als die der einzelnen Lösungen, so sind beide Stoffe in der Grenzfläche vertreten, wie es bei der Kombination Acetylcholin-Kodein gegenüber Paraffin-Ölsäure beobachtet wurde: der einzige Fall an der Grenzfläche Wasser-Öl; gegenüber Luft ist es auch bei der Kombination Acetylcholin-Atropin in Ölsäure-Phosphatpuffer eingetreten.)

Nun findet man aber das gleiche Verhalten auch bei Mischungen von Stoffen, welche nicht antagonistisch wirksam sind. Ferner ist das Verhalten derselben Kombination nicht überall das gleiche, sondern von der Natur der Phasen abhängig, z. B. ob man dem Phosphatpuffer-Paraffin-Gemisch Lezithin oder Ölsäure zusetzt. Es kommt also wesentlich auf das Medium an, in welches man die Mischung tropft, d. h. auf die physikalisch-chemische Struktur der zweiten Phase. Nun wissen wir darüber nichts und können unsere Modellflüssigkeiten nur vermutungsweise konstruieren. Jedenfalls spielen auch im Organismus derartige Unterschiede eine große Rolle, denn wir sehen ja den Antagonismus von Atropin gegen Acetylcholin nur an ganz bestimmten Stellen auftreten. Aber es ist vielleicht von Wichtigkeit, daß es überhaupt gelingt, außerhalb des Organismus eine derartige Gegenwirkung festzustellen.

Zur Klärung der grundsätzlichen Frage, wie sich zwei oberflächenaktive Substanzen in ihrer Kombination verhalten, wurden die Lösungen von Quillaja-Saponin (purum album Merck) und Guajaksaponin einzeln und in ihrer Kombination untersucht. Es liegen zwei Möglichkeiten vor: 1. Ein Stoff könnte den anderen verdrängen, dann würde die Tropfenzahl zwischen den Zahlen für die einzelnen Substanzen liegen, indem der wirksamere zum Teil durch den unwirksameren verdrängt würde, oder 2. es könnten sich beide Stoffe in ihrer Wirkung unterstützen, indem die Lücken zwischen dem einen Stoff in der Grenzfläche durch den zweiten Stoff ausgefüllt würden; dann muß die Tropfenzahl der Kombination größer sein, als jedem einzelnen Stoff entspricht. Die erste Möglichkeit wird bei konzentrierten, die zweite bei verdünnten Lösungen vorliegen. Diese Erwartung hat sich bestätigt.

Während die beiden Saponine beim Eintropfen ihrer Lösungen in 0,35% gegen Paraffin die Tropfenzahl weniger erhöhen als der wirksamere Körper allein, also der wirksamere Stoff durch den weniger wirksamen zum Teil aus der Grenzfläche verdrängt ist, ist die Tropfenzahl bei der Kombination der 0,035%igen Lösungen höher als die jedes

Kombination zweier Saponine.

Tropfenzahl von 10 ccm einer wäßrigen Saponinlösung in Phosphatpuffer, die vorher mit Paraffin aa geschüttelt wurde, nach dem Absetzen in dies Paraffin (oder in Luft) getropft:

		Gegen Paraffin	Gegen Luft
Phosphatpuffer allein		10,85 (= 100,0%)	76,76 (= 100,0%)
Sapon. alb. pur. (Merck)	0,35%	16,66 (= 153,5%)	94,26 (= 122,8%)
Guajak-Saponin	0,35%	31,42 (= 289,6%)	113,94 (= 148,4%)
Zusammen, je	0,35%	27,35 (= 252,1%)	113,31 (= 147,6%)
Sapon. alb. pur. (Merck)	0,035%	16,29 (= 150,1%)	86,88 (= 113,2%)
Guajak-Saponin	0,035%	26,09 (= 240,5%)	108,08 (= 140,8%)
Zusammen, je	0,035%	27,04 (= 249,2%)	105,18 (= 136,0%)
Sapon. alb. pur. (Merck)	0,0035%	15,65 (= 144,2%)	78,60 (= 102,3%)
Guajak-Saponin	0,0035%	15,98 (= 147,3%)	76,90 (= 100,2%)
Zusammen, je	0,0035%	18,39 (= 169,5%)	83,49 (= 108,7%)

einzelnen Stoffes, es beteiligen sich also beide Stoffe an der Herabsetzung der Grenzflächenspannung. Noch ausgesprochener ist dies letztere Verhalten bei der 10mal niedrigeren Konzentration von 0,0035%. (Auch gegenüber Luft findet sich dieser Gegensatz, wenn auch erst in der letzten, also größeren Verdünnung.)

Auf die physiologischen Verhältnisse übertragen, würde dies Verhalten unsere Unsicherheit der Anschauung noch vermehren, weil nicht nur die chemische und physikalische Eigenschaft des physiologischen Substrates unbekannt ist, sondern auch die Konzentration der in Betracht kommenden Stoffe an dieser Stelle.

Was aber grundsätzlich zu erweisen war, ist die Beeinflussung zweier Stoffe hinsichtlich der Grenzflächenspannung je nach ihrer Konzentration.

Zusammenfassung.

Ein allgemeiner Antagonismus von Atropin gegen Acetylcholin liegt am physiologischen Objekt nicht vor. Im Einklang damit findet eine allgemeine Beeinflussung des einen Stoffes durch den anderen auch in physikalisch-chemischem Sinne nicht statt, wie es z. B. eine Komplexbildung wäre. Eine solche ist nach dem Gefrierpunkt und dem Molekularvolumen ausgeschlossen, auch verhält sich die Mol-Refraktion rein additiv. Ebensowenig besitzt Atropin einen Einfluß auf die Cholinesterase oder deren Hemmung durch Physostigmin. Eine überall stattfindende Permeabilitätsbeeinflussung liegt gleichfalls nicht vor: am durchströmten Frosch oder am Herzen (von außen oder innen) ist der Einfluß des Atropinzusatzes zu verschiedenen Farblösungen von keinem Einfluß auf die Farbretention (bis auf die von Methylenblau am durchströmten Frosch). Bei einzelnen Versuchsanordnungen könnte es sich um eine Konkurrenz beider Stoffe handeln, wie am isolierten Darm; denn der Antagonismus ist anderer Art als der von Kurare gegen Acetylcholin.

Dagegen findet sich ein Einfluß von Atropinzusatz auf die Grenzflächenspannung von Acetylcholinlösungen, im Sinne einer Verdrängung des Acetylcholins aus der Grenzfläche Öl-Wasser. Aber dieser Antagonismus ist nicht spezifisch: er findet sich nicht bei allen Modellflüssigkeiten und andere nichtantagonistische Stoffe zeigen ein ähnliches Verhalten. Es kommt also maßgeblich auf das physikalisch-chemische Verhalten der Ölphase an, mit anderen Worten: auf den chemisch-physikalischen Aufbau des Substrates, an dem der Antagonismus erfolgen soll, ganz in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der physiologischen Untersuchungen, wo auch nur an bestimmten Stellen, den parasympathischen Nervenenden, ein spezifischer Antagonismus vorliegt, nicht aber an anderen Stellen, wo ebenfalls Acetylcholin entsteht.

Aber es ist von Bedeutung, daß sich überhaupt eine Beeinflussung des Acetylcholins durch Atropin im Modellversuch zeigen läßt, wenn auch ein geeignetes Modell für die spezifische Wirkung noch nicht gefunden ist.

Literatur.

[1] Straub, W.: Pflügers Arch. **119** (1907). — [2] Clark: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Erg.-Werk IV, S. 184 u. 194. Berlin: Springer 1937. — [3] Schmidt, Lieselotte: Vergleich der antagonistischen Wirkung von Atropin und Kurare auf Acetylcholin am isolierten Darm. Diss. Göttingen 1944. — [4] Genuit u. Junker: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, 97 (1943). — [5] Strecker: Atropin als permeabilitätsverändernder Stoff. Diss. Göttingen 1943. — [6] Meyer, Margarete: Methylviolett und Atropin. Diss. Göttingen 1944. — [7] Griepentrop: Die Aufnahme von Methylviolett durch das Froschherz bei äußerer Einwirkung unter Zusatz von Atropin. Diss. Göttingen 1944. — [8] Rieckhoff: Atropin und Absorptionsvorgänge. Diss. Göttingen 1945. — [9] Schneider, Edith: Die Wirkung von Strophanthin auf die Farbaufnahme des Froschherzens. Diss. Göttingen 1947. — [10] Riechert u. Wieland: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 629 (1941). — [11] Glick and Blaubach: J. gen. Physiol. (Am.) **25**, 197 (1941). Ber. Physiol. **133**, 632 (1943). — [12] Traube: Nach Smiles, Chemische Konstitution und physikalische Eigenschaften, S. 22ff. Bearb. von Herzog. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1914. — [13] Müller: Neuere Anschauungen der organischen Chemie, S. 84. Berlin: Springer 1940. — [14] Seelich: Pflügers Arch. **242**, 274 (1939); **243**, 283 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG. in Basel.

Über Verträglichkeit und Stoffwechselwirkung großer Dosen eines Aminosäuregemisches*.

Von

K. Fromherz und S. Markees.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Seit der Feststellung, daß von allen Spaltprodukten des Proteins nur 10 Aminosäuren für die Ernährung eines Säugetierorganismus unentbehrlich, die übrigen aber durch andere vertretbar sind, lag es nahe, künstlich zusammengestellte Aminosäuregemische zu therapeutischen Zwecken zu verwenden. Es wurden sowohl Gemische reiner kristallisierter Aminosäuren als auch Hydrolysate, vor allem von Kasein, allein oder mit geeigneten Zusätzen erprobt. Durch Aderlaß hervorgerufene Hypoproteinämie konnte in Tierversuchen durch Injektionen von Aminosäuren relativ rasch gebessert werden [vgl. Elman (1937, 1940), Madden c. s. (1944, 1946)], und man konnte entsprechende Erfolge bei Mangelernährung und Kachexie des Menschen erzielen. Besonders auch in der Säuglingsernährung [Wretlind (1946, 1947), Schürer (1946)] ermöglichten die Aminosäuren wesentliche Fortschritte. Die Produkte der vollständigen Hydrolyse von Eiweiß können keine Allergeneigenschaften mehr besitzen und wären deshalb gegenüber der Zufuhr z. B. von Blutplasma zu bevorzugen, nach der unerwünschte schockartige Nebenwirkungen nicht selten vorkommen. Trotz dieses offenbaren Vorteils schien es notwendig, die *Grenzen der Verträglichkeit* eines solchen Präparates nach toxikologischen und stoffwechselchemischen Gesichtspunkten zu prüfen. Über unsere dazu angestellten tierexperimentellen Untersuchungen soll im folgenden berichtet werden.

Material. Zu unseren Versuchen diente ein in den wissenschaftlichen Laboratorien der Firma Hoffmann-La Roche & Co. A.G. in Basel hergestelltes Säurehydrolysat von tierischem Eiweiß, das durch einen Zusatz von Tryptophan vollwertig gemacht ist, und das im folgenden kurz als „*Aminosäuregemisch*" bezeichnet werden soll. Das Präparat ist ein fast rein weißes Pulver mit Fleischextraktgeruch. Es enthält 12% Stickstoff und 0,7% Asche und ist in Wasser leicht löslich, konzentriert mit gelblicher Farbe. Es lassen sich ohne Schwierigkeiten 20%ige Lösungen herstellen, die steril haltbar sind. Unter bakteriellen

* Herrn Professor Dr. W. Heubner zum 70. Geburtstage gewidmet.

Einflüssen zersetzen sich jedoch die Lösungen des Präparates besonders leicht. Zu Versuchen können daher nur frisch bereitete oder steril verwahrte Lösungen verwendet werden. Solche sind neutral (p_H = 6,0) und injizierbar. Große orale Dosen lassen sich auch als Aufschwemmung in Wasser durch die Schlundsonde geben.

Toxikologische Prüfung.

Reizwirkung. Injiziert man 10- und 20%ige Lösungen des Aminosäuregemischs Kaninchen in die Ohrvene, dann sind keine Reizwirkungen auf das Gefäßendothel zu beobachten. Bei intrakutaner Injektion an der Dorsalseite des Kaninchenohrs bewirkt die 10%ige Lösung nur eine leichte umschriebene Rötung, die ohne weitere Störung wieder verschwindet und wohl schon allein durch die osmotische Wirkung erklärt ist.

Pyretische Wirkung. In pyrogenfreiem Wasser gelöst bewirkte das Präparat, in 15 Einzelversuchen Kaninchen intravenös injiziert, in Dosen von 100 mg/kg keine, in Dosen von 200 mg/kg nur ganz unbedeutende und rasch vorübergehende Temperatursteigerungen.

Histaminartige Wirkung. Frisch bereitete oder steril verwahrte Lösungen des Präparats haben am isolierten Meerschweinchendarm *keine* histaminartige, erregende Wirkung. Solche Wirkungen treten indessen beim Stehen von Lösungen ohne aseptische Kautelen durch bakterielle Zersetzung leicht auf.

Verträglichkeit an Kaninchen bei intravenöser Injektion. Injiziert man das Aminosäuregemisch in 20%iger Lösung Kaninchen in die Ohrvene, dann erhält man *keine* Allgemeinwirkungen. Wir haben schließlich einem Kaninchen von 2,5 kg innerhalb von 6 Stunden 3 Einzeldosen von je 10 g (50 ccm 20%ige Lösung) = 4,0 g/kg, insgesamt 30 g Trockensubstanz, intravenös injiziert, ohne daß irgend welche Erscheinungen zu beobachten gewesen wären. Das Tier blieb munter.

Nach dieser Feststellung war es überraschend, daß das Präparat *bei oraler Applikation* nicht unbegrenzt ertragen wurde. Im wesentlichen zum Zweck der unten zu beschreibenden Stoffwechseluntersuchungen wurden zahlreiche Einzelversuche durchgeführt, bei denen das Aminosäuregemisch in großen Dosen, mit Wasser angerieben, teils gelöst, teils aufgeschwemmt mit der Schlundsonde Kaninchen im Gewicht von 2,5—3,0 kg in den Magen gegeben wurde. Dabei wurden Dosen von 7,5 g/kg von gesunden Tieren immer symptomlos ertragen; Dosen von 10,0 g/kg waren in einem Teil der Fälle, 15,0 g/kg in der Regel, wenn auch nicht immer letal. 10,0 g/kg dürfte die 50% letale Dose sein. Obwohl diese hohen Dosen nur mit beträchtlichen Flüssigkeitsmengen eingegeben werden können, bleiben die Tiere bei subletalen Dosen symptomlos. Toxische Dosen führen unter charakteristischen Vergiftungserscheinungen zum Tode: 2—5 Stunden nach der Eingabe treten Krämpfe

auf, die durch eine erhöhte Reflexerregbarkeit, Zittern und Zuckungen eingeleitet werden. Die Tiere verfallen dann in Seitenlage unter Verlangsamung und Vertiefung der Atmung. Der Tod erfolgt unter Erlöschen der Reflexe oder auch in einem allgemeinen Streckkrampf.

Sektionsbefunde. In einem Teil der Versuche konnte die Sektion unmittelbar nach dem Tod der Tiere vorgenommen werden. *Makroskopisch* fällt eine starke meteoristische Auftreibung der Därme auf. Die Brustorgane waren, abgesehen von einer sekundären Blutfülle abhängiger Teile der Lungen, normal. Die Leber erschien blaß und etwas trübe bei erhaltener Läppchenzeichnung. Weitere Veränderungen waren nicht festzustellen. *Mikroskopisch* zeigte das Parenchym der *Leber* trübe Schwellung ohne Verfettung. In einem Falle wurden die frischen Organe unmittelbar nach dem Tode entnommen und von Herrn Prof. Werthemann untersucht[1]. Dieser fand in der *Leber* teilweise Untergang der Zellkerne, oder deren Verdeckung durch eine körnige Beschaffenheit des Protoplasmas. Verengerung und geringe Blutfüllung der Leberkapillaren infolge Schwellung der Zellen, dabei Überfüllung der sublobulären Venen mit Blut. In den Leberzellen war keine Fettanreicherung und kein Glykogen nachweisbar. In den *Nieren* fanden sich, abgesehen von einer geringen Hyperämie, keine Veränderungen.

Eine sichere direkte Todesursache konnte demnach durch die Sektionsbefunde nicht festgestellt werden.

Chronische Dosierung. In mehreren Einzelversuchen erhielten *Kaninchen* 3 Wochen lang täglich jeweils 1,0 bzw. 2,0 g des Aminosäuregemischs je Kilogramm per os bzw. intravenös. Im ganzen bekamen die Tiere innerhalb der angegebenen Zeit bis zu 64 g Substanz intravenös bzw. bis zu 128 g per os. *Hunde* erhielten 3 Wochen lang täglich 0,5 g/kg intravenös = 25 ccm 20%ige Lösung, insgesamt 90 g in 18 Dosen bzw. täglich 2,0 g/kg per os = 80 ccm 20%ige Lösung, insgesamt 336 g in 21 Dosen.

In allen diesen Versuchen waren keinerlei Vergiftungserscheinungen festzustellen. Die Tiere fraßen normal und zeigten am Ende der Versuchsperioden eine geringe Zunahme des Körpergewichts. Nur ein intravenös behandelter Hund zeigte eine geringe Abnahme des Gewichts.

Die intravenöse Injektion von 1,0 g/kg verursachte bei einem Hunde Erbrechen und konnte deshalb nicht fortgesetzt werden. Bei der intravenösen Injektion war die Verteilung des Präparats in der Blutbahn des Hundes offenbar mit einer Geschmacksempfindung verbunden, denn das Tier fing regelmäßig nach Einspritzung der halben Dose in die Vene an zu lecken.

Diese Versuche zeigen, daß das Präparat auch bei langdauernder chronischer Verabreichung in großen Dosen ohne Schaden ertragen wird, daß mithin Vergiftungserscheinungen nur bei rascher Resorption enormer Mengen von Aminosäuren aus dem Magen-Darmkanal hervorgerufen werden, die etwa für einen erwachsenen Menschen den Aminosäuren von 2,5 kg Rindfleisch entsprechen würden.

---

[1] Herrn Professor Dr. A. Werthemann, Direktor der pathologischen Anstalt der Universität Basel, danken wir auch an dieser Stelle für seine Bemühungen.

So große Mengen gelöster, nicht rasch genug resorbierbarer Stoffe könnten eventuell durch ihre *osmotische Wirkung* im Darm dem Blut und den Geweben größere Mengen Wasser entziehen und dadurch zu einer Bluteindickung führen, ähnlich wie das z. B. für Glaubersalz leicht durch die Vermehrung der Zahl der roten Blutkörperchen je Volumeneinheit nachzuweisen ist. Zählungen der Erythrozyten nach der oralen Eingabe des Präparats an Kaninchen (vgl. Tabelle 1) ergaben jedoch keine wesentlichen Veränderungen. Eine osmotisch bedingte Bluteindickung kann demnach in solchen Versuchen nicht für die letale Wirkung verantwortlich gemacht werden.

Tabelle 1.

Dosen Aminosäuren per os, g/kg	Rote Blutkörperchen Millionen/ccm							Bemerkungen
	vor	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	6	
	Stunden nach der Eingabe							
10	5,6	5,9	5,9	6,1		6,1	5,6	
15	6,0	5,6	5,7		5,9		+	(letal)

Das *Blutbild* wurde an Kaninchen durch diese Dosen nicht beeinflußt: Hämoglobingehalt, Zahl der Leukozyten und Verteilung der Arten derselben blieben unverändert. Auch die Prothrombinzeit blieb normal.

Veränderungen des Stoffwechsels durch große orale Dosen des Aminosäuregemischs.

Wie oben beschrieben, war es nicht möglich, nach letalen oralen Dosen des Aminosäuregemischs bei Kaninchen eine klare Todesursache anatomisch festzustellen. In der Annahme, daß diese in schwereren Störungen des Zellstoffwechsels, speziell der Leber, gefunden werden könnte, wurde in verschiedenen Richtungen versucht, solche nachzuweisen.

1. Wirkungen auf den *Blutzucker*. An nüchternen Kaninchen im Gewicht von 2,5—3,0 kg wurde der Blutzucker vor und 1—5 Stunden nach der Eingabe des Präparats nach HAGEDORN-JENSEN bestimmt. Die Befunde sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Die Versuche zeigen eine mäßige Steigerung des Blutzuckers bei der letalen und bei subletalen Dosen. Diese Wirkungen würden selbst keine bedenkliche Störung bedeuten, weisen aber doch auf eine Beeinflussung der Leberfunktion hin.

Tabelle 2.

Dosen g/kg	Blutzucker mg/100 ccm						Bemerkungen
	vor	1	2	3	4	5	
	Stunden nach der Eingabe						
5	73	93	94	95	80	65	
10	76	97,5	105,5	107,5	73	66	überlebt
15	76	93	112	118	152	118	2 Stunden später tot

2. Durch Bestimmung der *Alkalireserve* wurde die Wirkung großer Dosen des Aminosäuregemischs auf den Säure-Basenhaushalt geprüft. In Tabelle 3 sind die Wirkungen auf das CO_2-Bindungsvermögen des Blutes (Vol.CO_2 je 100 ccm Blutplasma) angegeben:

Tabelle 3.

Dosen g/kg	Vol.-% CO_2				Bemerkungen
	vor	1	2	5	
	Stunden nach der Eingabe				
7,5	49,0	31,4	42,6	39,7	überlebt
15,0	38,0	24,2	33,4	21,4	letal

Wie diese Zahlen zeigen, sinkt in beiden Versuchen die Alkalireserve 1 Stunde nach der Eingabe deutlich ab. Während es aber nach der kleineren Dose im weiteren Verlauf zu einer langsamen Annäherung an den Nüchternwert kam, fiel die Alkalireserve nach der größeren Dose nach kurzem Wiederanstieg erneut und noch tiefer ab. 30 Min. nach dem niedrigsten beobachteten Wert ist das Tier gestorben. Eine Säurewirkung spielt also bei der letalen Wirkung großer Dosen des Aminosäuregemischs offenbar eine Rolle.

3. In engem Zusammenhang mit einer erhöhten Säureanhäufung steht in der Regel eine Steigerung des *Ammoniakgehalts des Blutes*. Es wurde in einer Reihe von Versuchen zunächst festgestellt, daß der Ammoniakgehalt des Blutes beim normalen nüchternen Kaninchen zu gering ist, als daß er mit der üblichen Destillationsmethode erfaßt werden könnte. Es wurde dann das Blut von Kaninchen nach oraler Eingabe von 7,5 g/kg Aminosäuregemisch in 2—3stündigen Abständen auf Ammoniak geprüft. Es konnte aber niemals eine eindeutige Steigerung festgestellt werden. Auch nach 15 g/kg war trotz letaler Wirkung das Ergebnis dasselbe. Offenbar spielt also eine Ammoniakproduktion bei der Verwertung der Aminosäuren im intermediären Stoffwechsel des Kaninchens keine nennenswerte Rolle.

4. Eine Steigerung des *Reststickstoffs im Blut* war nach großen Dosen des Präparats ohne weiteres zu erwarten. Mit dem Rest-N werden nicht nur die direkt in den Kreislauf übergegangenen Aminosäuren, sondern auch deren N-haltige Abbauprodukte erfaßt. Erstere gelangen durch die Pfortader in die Leber und von da, soweit sie nicht in der Leber verwertet werden, in die allgemeine Zirkulation. Letztere können von Stoffwechselprozessen in allen Organen, vorwiegend aber in der Leber, herrühren. Sie befinden sich auf dem Wege zu den Ausscheidungsorganen, in erster Linie zur Niere. Im Blute werden also nur die relativ geringen Anteile der verfütterten Präparate erfaßt, die infolge Überbeanspruchung der Organe nach ihrer Resorption weder in den Geweben gebunden noch ausgeschieden werden konnten.

Zur näheren Definierung des Rest-N wurden gleichzeitig Bestimmungen des *Harnstoffs* im Blut ausgeführt.

Der Rest-N wurde nach Enteiweißung des Blutes nach KJELDAHL bestimmt. Die Harnstoffbestimmung erfolgte im enteiweißten Serum nach der Bromlaugenmethode von SAEGESSER. Die Ergebnisse wurden auf Harnstoff-N berechnet, um den Vergleich mit den Rest-N-Werten zu erleichtern. Sie sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Die Verlaufskurven der Mittelwerte sind aus Abb. 1 ersichtlich.

Die Versuche zeigen deutlich den Anstieg des *Rest-N* im Blut mit Maximum nach 5—8 Stunden. Nach subletalen Dosen ist der Rest-N 24 Stunden nach der Eingabe des Präparats zwar wieder gesunken, doch nicht bis zur Norm. Bei individuellen Differenzen, wie sie zu erwarten waren, beträgt die maximale Steigerung des Rest-N im Mittel 33,5 mg je 100 ccm Blut. Daraus berechnet sich, daß maximal 3% des Stickstoffs der verfütterten Aminosäuren gleichzeitig im Blute kreisen.

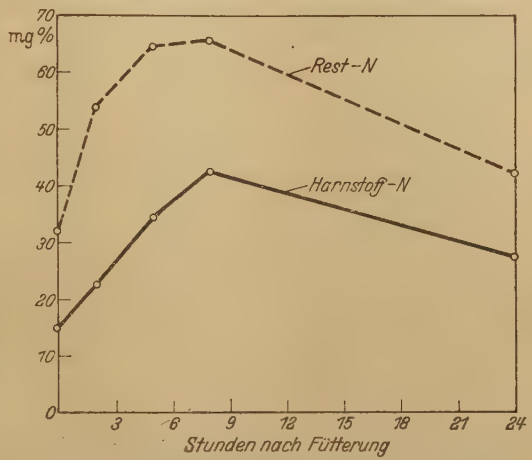


Abb. 1. Verlauf der Mittelwerte der Vermehrung von Harnstoff-N und Rest-N.

Die Bestimmungen des *Harnstoffs* im Blut ergaben einen langsameren Anstieg des Harnstoff-N im Vergleich zu dem Anstieg des Rest-N, mit Maximum nicht vor 8 Stunden nach der Eingabe des Präparats. Der Vergleich der Zahlen für Harnstoff-N und Rest-N zeigt, daß in den ersten Stunden nach der Eingabe nur ein Drittel der Vermehrung auf Harnstoff entfällt, mithin die Rest-N-Vermehrung überwiegend auf unveränderte oder wenig veränderte Aminosäuren zu beziehen ist. Der Anteil des Harnstoffs am Rest-N steigt dann aber rasch an, und nach 24 Stunden entspricht die Harnstoffvermehrung der gesamten Vermehrung des Rest-N. Es wäre daraus zu schließen, daß nach dieser Zeit die gesamte Menge der verfütterten Aminosäuren in den Geweben fixiert ist und nur noch Endprodukte des durch sie veranlaßten gesteigerten Stoffwechsels zur Ausscheidung gelangen.

5. Um das *Schicksal* der verfütterten Aminosäuren im Organismus und ihren *Einfluß auf den Stoffwechsel* weiter zu verfolgen, wurde in neuen Versuchen gleichzeitig mit dem Rest-N im Serum auch die Stickstoffausscheidung im Harn bestimmt. Es wurden mehrere Versuche bei verschiedener Fütterung an Kaninchen ausgeführt, die

Tabelle 4. *Harnstoff-N und Rest-N von Kaninchen nach oraler Eingabe von 7,5 g Aminosäuregemisch je Kilogramm.*

Kaninchen Nr.		N in mg je 100 ccm Blutserum				
		vor	2	5	8	24
		Stunden nach der Eingabe				
862	Harnstoff-N . . .	11,2	16,7	26,9	29,7	46,0
	Rest-N	25,2	43,4	47,6	49,0	53,2
886	Harnstoff-N . . .	12,7	16,2	36,4	43,1	19,6
	Rest-N	19,6	44,8	60,2	64,4	32,2
919	Harnstoff-N . . .	12,4	18,5	33,0	42,0	28,6
	Rest-N	28,0	43,4	51,8	58,8	37,8
870	Harnstoff-N . . .	8,95	19,0	28,0		
	Rest-N	29,4	61,6	56,0		
878	Harnstoff-N . . .	10,1	28,0	33,6	41,7	30,2
	Rest-N	28,8	63,0	65,8	64,4	44,8
856	Harnstoff-N . . .	14,6	25,8	41,4	44,2	16,8
	Rest-N	35,0	52,8	75,6	67,2	36,4
864	Harnstoff-N . . .	34,7	33,0	49,3	51,0	26,9
	Rest-N	58,8	68,6	95,2	89,6	49,0
487	Harnstoff-N . . .	15,7	20,2	20,2	33,0	
499	Harnstoff-N . . .	17,7	25,2	43,7	53,8	23,5
Mittel:	Harnstoff-N . . .	15,4	22,4	34,7	42,3	27,4
	Rest-N . . .	32,1	53,9	64,6	65,6	42,2
Vermehrung:	Harnstoff-N	—	7,0	19,3	26,9	12,0
	Rest-N . . .	—	21,8	32,5	33,5	10,1
	Vermehrung des Harnstoff-N je 100 Rest-N	—	32	59	80	100

erheblich verschiedene Ergebnisse hatten, für die Tabelle 5 typische Beispiele zeigt.

Die Fütterung der Kaninchen, Gruppe 1, bestand in Mohrrüben und Brot, die der Gruppe 2 in Dickrüben und Hafer. Es wurden nur männliche Tiere verwendet und der Harn durch Katheter abgegrenzt. In dreitägigen Vor- und Nachperioden wurde der 24stündige Harn untersucht. An den Versuchstagen wurde eine 8stündige Tagperiode und eine 16stündige Nachtperiode getrennt geprüft. Für die Beurteilung der N-Vermehrung im Harn wurden die Ergebnisse auf Stunden berechnet. Die parallelen Rest-N-Bestimmungen im Serum erfolgten vor und 3, 7, 24 und 32 Stunden nach der Eingabe des Präparates.

Bei den Schwierigkeiten, die einer exakten Stoffwechselbilanz bei Kaninchen entgegenstehen, sind erhebliche Schwankungen der Einzelergebnisse zu erwarten. Diese beziehen sich vor allem auf die durch die Fütterung einer derartig großen Menge von Eiweißspaltprodukten bedingte N-Retention. Die Differenzen dürften wesentlich von der Eiweißversorgung der Tiere während der Vorperioden abhängen. Wir haben absichtlich Beispiele zweier ganz verschieden verlaufener Versuche in Tabelle 5 aufgenommen. Der eine Versuch zeigt eine nicht unerhebliche N-Retention, der andere dagegen einen N-Verlust, der sich auch auf die Nachperiode erstreckt, und sich als durch das Präparat veranlaßten toxischen Eiweißzerfall auffassen ließe.

Tabelle 5. *N-Stoffwechsel des Kaninchens nach Fütterung mit Aminosäuregemisch.*

Periode Tag	Futter I Kaninchengewicht 2,3 kg			Futter II Kaninchengewicht 2,1 kg		
	Harn-N je Periode mg	je Stunde	Serum Rest-N mg-%	Harn-N je Periode mg	je Stunde	Serum-Rest-N mg-%
Vorperiode:						
I	590	24,5		630,0	26	
II	600	25,0		730,8	30,4	
III	610	25,5	30,8	534,2	22,3	22,4
Mittel I—III	600	25,0		632	26,3	
Versuchstag			60,2			39,2
(8 Stunden) IVa	390	49,0	61,6			44,9
(16 „) IVb	1160	72,5	56,0	1694	70,5	
N-Vermehrung gegen Vorperiode:	+950			+ 1062		
Nachperiode: V	1920	80	43,0	667,8	27,4	29,4
N-Vermehrung:	+ 1320			+ 25,8		
VI	1130	47		718,2	30	
N-Vermehrung:	+ 530			+ 86,2		
VII	650	27		781,2	32,5	
N-Vermehrung:	+ 50			+ 149,2		
Summe N-Vermehrung:	+ 2850			+ 1323,2		
N von verfüttertem Präparat	2000			1700		
	N-Verlust: 850 mg			N-Retention: 376,8		

Die Verfütterung einer großen Menge des Aminosäuregemischs führt also, wie zu erwarten, zu einer beträchtlichen Vermehrung der Stickstoffausscheidung im Harn. Diese kann hinter der zusätzlich eingegebenen Menge wesentlich zurückbleiben, entsprechend einem Eiweißansatz; sie kann aber auch bedeutend höher sein, entsprechend einem durch die Eingabe des Präparats veranlaßten pathologischen Eiweißzerfall. Man kann annehmen, daß ein solcher durch eine Leberschädigung zu erklären ist, auf die auch unsere anatomischen und analytischen Befunde hinweisen.

Die Vermehrung der Stickstoffausscheidung beginnt in allen Versuchen in den ersten 8 Stunden nach Eingabe des Präparats, erreicht aber erst in der folgenden 16stündigen Periode ihr Maximum und setzt sich auch noch am folgenden Tage fort. Sie ist nach 48 Stunden beendet, sofern nicht N-Verluste eintreten, die nicht mehr den verfütterten Aminosäuren, sondern der Organsubstanz der Tiere entstammen.

Wie zu erwarten, geht die Vermehrung des Rest-N im Serum bei steilerem Anstieg mit ihrem Maximum dem Maximum der N-Ausscheidung voraus. Sie besteht an dem auf den Versuchstag folgenden

Tag noch fort, entsprechend der noch nicht beendeten Vermehrung der N-Ausscheidung im Harn.

Zusammenfassung.

1. Ein durch Säurehydrolyse gewonnenes Aminosäuregemisch, das alle für die Ernährung wesentlichen Aminosäuren enthält, wurde frei von pyretischer und histaminartiger Wirkung befunden und zeigte nur einen belanglosen Grad von Reizwirkung.

2. Das Präparat wird bei intravenöser Injektion von Kaninchen innerhalb von 5 Stunden auf 3 Dosen verteilt in Mengen von 12 g/kg symptomlos ertragen, ebenso von Kaninchen und Hunden bei 3 Wochen lang verabfolgten täglichen hohen intravenösen Dosen. In Dosen von 10 g/kg Kaninchen in den Magen gegeben wirkt es indessen letal.

3. Der Tod erfolgt dabei unter Krämpfen. Eine unmittelbare Todesursache ist nicht nachweisbar, doch weisen mikroskopische Bilder auf eine durch die Überlastung bedingte Leberschädigung hin.

4. Das *Blutbild* wird durch große Dosen des Präparats nicht verändert. Unveränderte Zahl der roten Blutkörperchen beweist das Fehlen einer nennenswerten Blutverdickung.

5. Der *Blutzucker* ist bei toxischen oralen Dosen von Aminosäuren in mäßigem Grade gesteigert. Eine Verminderung der *Alkalireserve* deutet auf eine vermehrte Säurebildung hin, die jedoch am Kaninchen nicht mit vermehrter *Ammoniak*bildung verbunden ist.

6. Steigerungen von *Rest-N* und *Harnstoff im Blutserum* zeigen, daß bei großen oralen Dosen von Aminosäuren nicht unwesentliche Anteile die Leber nach der allgemeinen Zirkulation hin passieren, später aber zu vermehrter Harnstoffbildung führen.

7. Der vermehrt angebotene Aminosäure-N wird innerhalb von 48 Stunden im Harn ausgeschieden. Je nach dem N-Gleichgewicht des Tieres kann er zu wesentlichen Anteilen retiniert werden. Es kann aber auch bei Dosen, die nahe der Toxizitätsgrenze liegen, ein N-Verlust eintreten, der als toxisch bedingt aufgefaßt werden muß.

Literatur.

Elman, R.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 867 (1937); **43**, 14 (1940). — Madden, S. C., R. R. Woods, F. W. Shull and G. H. Whipple: J. exper. Med. (Am.) **79**, 607 (1944). — J. amer. med. Assoc. **131**, 356 (1946). — Wretlind, K. A. J.: Acta phys. Scand. **13**, 45 (1947). — Lancet **251**, 228 (1946). — Schürer, W.: Ann. Paediatrici **167**, 320 (1946).

From the Department of Pharmacology University of Chicago.

Metabolism of quinine*.

By

E.M.K. Geiling and F. E. Kelsey.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Quinine has been used in medicine for over 300 years. Until the discovery of atebrin in 1932 it was the drug of choice for the treatment of malaria. The long history of successful use of quinine and its low toxicity ensure its continued use for some time to come. Despite the many investigations on quinine as an antimalarial agent, little information has been obtained concerning the mechanism of its action. Furthermore, the question of whether quinine itself or a metabolic derivative is the active agent in killing the parasites is not yet settled.

The problem of drug control of malaria has assumed greater urgency in recent years. In attacking this problem, it appeared to us that further information as to the intermediary metabolism of quinine in different species of animals might be of value both in helping to explain the species variation in response to the antimalarial drugs and in suggesting the chemical structure for new drugs with a more persistant effect or with a quantitatively greater effect on the parasites.

Recent advances in instrumentation have made possible the routine and convenient use of highly sensitive photofluorometers. The intensity of fluorescence of acidified quinine solutions is high enough to permit the determination of as little as 1 : 10000000 of quinine in biological samples provided that extraction of the drug is quantitative and that sufficient purification of the extract is possible so as to eliminate all substances affecting the fluorescence. A convenient procedure is the solution of the tissue by warm potassium hydroxide, followed by extraction of the quinine by ethyl ether and purification by extraction of the separated ether phase with diluted sulfuric acid. This aqueous acid extract is then sufficiently pure to permit a direct estimation of the quinine content by the fluorescence of the solution[1].

Using the above described procedure quinine analyses were made on the several tissues and fluids of a variety of commonly used laboratory animals after either oral or intravenous administration of the drug[2–5]. Data obtained in the course of this work were of value in

* This work is offered as a tribute to Prof. Heubner on his 70th birthday in recognition of his own fundamental researches in Pharmacology, and his great service to the Bio-Medical Sciences.

the interpretation of results obtained following the administration of quinine to birds in the routine screening of new drugs for antimalarial activity, since quinine was always used as the standard to which the activity of new drugs was referred.

In the course of our investigations on the comparative pharmacology of quinine, it was observed that the rabbit was capable of rapidly destroying the drug since the concentrations observed in the several tissues and fluids were in general much lower than were found in other species[3]. Experiments on the stability of quinine when exposed to extracts of the liver of the rabbit revealed that this tissue contained a powerful quinine-destroying enzyme system[6,7]. In view of the uncertainty as to whether quinine or a metabolite was the active antimalarial agent, it was thought desirable to investigate the nature of the product formed by the action of rabbit liver on quinine.

After preliminary investigations concerning the optimal conditions for the degradation, it was found that a mixture of liver brei in Ringer-Locke solution with added glucose, could cause the disappearance of considerable amounts of added quinine in six hours when kept well aerated at 38° C.

When such a digestion mixture was extracted with n-butyl alcohol and the alcohol phase diluted with petroleum ether and shaken with dilute sulfuric acid, both the unchanged quinine and the quinine degradation product were obtained more or less pure in the acid solution. These two substances were separated from each other by alkalinizing the acid extract with potassium hydroxide and shaking with ethyl ether. The quinine was obtained by evaporation of the ether phase; the quinine degradation product by acidification and then neutralization with ammonia of the aqueous phase. The precipitate so formed was separated by filtration and crystallized from dilute ethyl alcohol[8]. It was later identified by Mead and Koepfli[9] as the simple carbostyril derivative of quinine. The enzyme responsible for the reaction was shown by Knox[10] to be intimately associated with the flavoprotein, liver aldehyde oxidase. The oxidation of quinolines by this enzyme is limited to the α-position and the rate of oxidation is correlated with the activity of the α-hydrogen. Quinolines, isoquinoline, and some pyridine derivatives are oxidized.

The antimalarial activity of this metabolite of quinine was found to be appreciably less than that of quinine. Its toxicity towards the host animal was also less[11]. The susceptibility to oxidation of the α-position on the quinoline portion of the quinine molecule, with a resultant decrease in activity, suggested the synthesis of related compounds in which this position was blocked. Consequently a large number of quinoline carbinols were synthesized and tested for antimalarial

activity in a number of laboratories in the United States[12]. Several such compounds have been found to possess a remarkably high activity, as high as thirty times that of quinine itself. Several of these drugs are receiving further study. One, SN 10275, has been found to be metabolized and/or excreted very slowly; high concentrations remaining in the body for several weeks after administration of the drug is discontinued.

Summary.

Studies of the comparative pharmacology of quinine revealed that rabbits possessed an unusual ability to metabolize this drug. The metabolic derivative formed by rabbit liver *in vitro* was isolated in pure crystalline form and found to possess a lower toxicity and antimalarial activity than quinine. In collaboration with other laboratories, the structure of this new derivative was established and several analogues synthesized with blocking groups present at the site of oxidation. Certain of these compounds show considerable promise and are still under investigation.

References.

[1] Kelsey, F. E. and E. M. K. Geiling: J. Pharmacol. (Am.) **75**, 183 (1942). — [2] Kelsey, F. E., F. K. Oldham and E. M. K. Geiling: J. Pharmacol. (Am.) **78**, 314 (1943). — [3] Burton, A. F. and F. E. Kelsey: J. Pharmacol. (Am.) **79**, 70 (1943). — [4] Oldham, F. K., F. E. Kelsey, W. Cantrell and E. M. K. Geiling: J. Pharmacol. (Am.) **82**, 349 (1944). — [5] Kelsey, F. E., F. K. Oldham and E. M. K. Geiling: J. Pharmacol. (Am.) **85**, 170 (1945). — [6] Kelsey, F. E. and F. K. Oldham: J. Pharmacol. (Am.) **79**, 77 (1943). — [7] Oldham, F. K. and F. E. Kelsey: J. Pharmacol. (Am.) **79**, 81 (1943). — [8] Kelsey, F. E., E. M. K. Geiling, F. K. Oldham and E. H. Dearborn: J. Pharmacol. (Am.) **80**, 391 (1944). — [9] Mead, J. and J. B. Koepfli: J. biol. Chem. (Am.) **154**, 507 (1944). — [10] Knox, W. E.: J. biol. Chem. (Am.) **163**, 699 (1946). — [11] Kelsey, F. E., F. K. Oldham, W. Cantrell and E. M. K. Geiling: Nature (Brit.) **157**, 440 (1946). — [12] Wiselogle, F. Y.: A Survey of Antimalarial Drugs, 1941—1945; Ann. Arbor (Michigan): J. W. Edwards 1946.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.

Reizstoffe und ihre Wirkungsweise*.

Von

Hans T. A. Haas.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Als Reiz bezeichnet man einen Vorgang physikalischer oder chemischer Art, der geeignet ist, im lebenden Gewebe eine Zustandsänderung hervorzurufen. Diese Definition des Begriffes „Reiz" trifft ohne Zweifel für den Mechanismus der lokalangreifenden Gifte zu, die an der äußeren und inneren Körperoberfläche eine örtliche Wirkung setzen.

Mit einer solchen Definition ist aber für das Verständnis des Wirkungsmechanismus der Hautreizstoffe nicht allzuviel gewonnen, solange es unbestimmt bleibt, wie im einzelnen die Reaktion der oberflächlichen Gewebe mit den verschiedenen Reizen abläuft und inwieweit tatsächlich ein direkter Zusammenhang zwischen den sichtbaren Hautveränderungen und dem reizenden Agens besteht. Bei der Suche nach den näheren Wirkungsbedingungen hat man sich von 2 Gesichtspunkten leiten lassen, von dem äußeren Wirkungsbild, das der einzelne Reizstoff an der Haut auslöst bzw. von den Eigenschaften und Eigenarten, die den reizenden Agenzien zukommen. So hat z. B. die alte Materia medica nach rein äußerlichen Merkmalen zwischen Rubefacientia, Vesicantia und Suppurantia unterschieden. In Anlehnung an dieses ältere Einteilungsschema hat später Meyer-Gottlieb[1] bei stärkerer Berücksichtigung des Wirkungsmechanismus wiederum 3 Gruppen abgegrenzt: Schmerz erzeugende und rötende Hautreizstoffe; Mittel, die durch Zellnekrose Blasen ziehen und Eiterung hervorrufen und schließlich allgemein zelltötende, ätzende sowie nekrotisierende Gifte. Zwischen diesen einzelnen Gruppen können aber alle Arten von Übergängen vorkommen, so daß eine wirkliche exakte Einordnung auf dieser Grundlage nicht durchführbar ist. Außerdem ist aus diesem Ordnungsprinzip für die Klärung des eigentlichen Wirkungsmechanismus nicht allzuviel zu gewinnen.

Heubner[2] hat daher versucht, die Reizstoffe nach ihren vorwiegenden Angriffspunkten in der Haut einzuteilen, wobei er zwischen Nerv-,

* Herrn Prof. Dr. Heubner zum 70. Geburtstag in dankbarer Verehrung gewidmet.

Kapillar- und Zellgiften unterscheidet. Aber auch diese Eigenschaften besitzen die wenigsten Substanzen in elektiver Weise. Zumeist vereinigt jeder Stoff mehrere Angriffsmöglichkeiten in sich. Infolgedessen überwiegen auch bei dieser Aufteilung der Reizstoffe die Übergangs- und Kombinationsformen. So gibt es z. B. relativ viele Zellgifte mit gleichzeitiger Kapillar- und Nervenreizwirkung oder andere komplexe Wirkungsformen. Nur in Ausnahmefällen werden bestimmte Einzelelemente der Haut tatsächlich isoliert betroffen. Dies gilt z. B. für Menthol und die Reizstoffe aus Ingwer und Pfeffer, die vorwiegend die wärmeempfindlichen Nervenendigungen befallen. HEUBNER[2], STARY[3].

Bei den übrigen Substanzen ist im allgemeinen die exakte Festlegung des primären Angriffspunktes in der Haut äußerst schwierig. So wurde bisher der Mechanismus der Allylformiatwirkung auf eine Lockerung der Zellmembranen mit bevorzugtem Angriffspunkt an den Gewebskapillaren und die Entstehung einer serösen Entzündung zurückgeführt. Durch die Untersuchungen von FLECKENSTEIN[4] wurde jedoch nachgewiesen, daß diese Verbindung direkt in der Zelle angreift und dort eine Schädigung des Kohlehydratumsatzes setzt. Das Wesen der Allylformiatvergiftung dürfte demnach primär auf einer Beeinflussung fermentativer Prozesse im Bereich des Kohlehydrathaushaltes beruhen. Das gleiche gilt auch für Allylamin, Allyl-Senföl und andere ungesättigte Verbindungen. Der besondere Angriffspunkt in der Haut liegt bei all diesen Substanzen und anderen Reizstoffen nach den Untersuchungen von BACQ[5] an den Sulfhydrilsystemen der Oberhaut, besonders an dem Redoxsystem Cystein-Cystin. Dazu paßt die Vorstellung, daß diese reaktionsfähigen ungesättigten Körper als unphysiologische Wasserstoffakzeptoren in den intermediären Stoffwechsel eingreifen und so die geordnete Wasserstoffübertragung stören. Die morphologischen Veränderungen an der Haut und das Versagen der Gefäße stellen bei diesen Giften wahrscheinlich nur sekundäre Reaktionen dar. Ursache und Wirkung sind demnach bei dem Versuch einer Festlegung des eigentlichen Wirkungsmechanismus nur zu leicht zu verwechseln. Es sei dabei darauf hingewiesen, daß der Mechanismus der serösen Entzündungsprozesse nicht bei allen Kapillargiften auf einer Störung elementarer Prozesse im Kohlehydratstoffwechsel zurückgeht. Beim Histamin werden z. B. nach FLECKENSTEIN[4] die Kohlehydratumsetzungen nicht direkt beeinflußt.

Für die Festsetzung des Wirkungsmechanismus nach dem Vorgehen von HEUBNER[2] kommt bei der Prüfung an der lebenden Haut noch erschwerend hinzu, daß die Gefäß- und Gewebszellen sehr innig mit den nervösen Elementen verflochten und durchsetzt sind. Man muß daher in der Regel mit einer gleichzeitigen Affektion mehrerer Hautelemente rechnen, wobei nur selten sicher zu entscheiden ist, welcher

Gewebsbestandteil zuerst betroffen wurde, und ob Nerv, Gefäß oder Stromazelle als primärer Angriffspunkt zu gelten haben. Außerdem wissen wir seit den grundlegenden Untersuchungen von EBBECKE[6] und später von LEWIS[7], daß in der Haut bei jedem Reiz sekundäre Reaktionen ausgelöst werden, vor allem in Form einer Freisetzung von Histamin und histaminähnlichen Substanzen, durch die ebenfalls die Funktion von Kapillar und Nerv sofort geändert wird. Der Hautreiz pflegt sich also augenblicklich in eine komplexe Reaktion umzusetzen, die einmal auf eine Reizung der nervösen Substanz direkter oder indirekter Art hinzielt und gleichzeitig auch die Stromazellen selbst affiziert. Dies gilt offenbar für alle Reize, gleichgültig ob sie mechanisch, thermisch, photochemisch oder durch Pharmaka ausgelöst sind. Es ist daher nur zu verständlich, wenn auch das äußere Wirkungsbild bereits primär durch einen etwa gleichartigen komplexen Wirkungscharakter gekennzeichnet ist, der sich in Form von Erythem (Rötung an der Einwirkungsstelle), Hyperämie (vermehrter Durchblutung in der Umgebung der gereizten Partie) und lokalem Ödem (Quaddelbildung und Schwellung) zu äußern pflegt.

Bei der Analyse des Wirkungsmechanismus kann man auch den umgekehrten Weg einschlagen, indem nicht von der Haut, dem Wirksubstrat, sondern von den Eigenschaften der einwirkenden Stoffe und den als Reiz dienenden chemischen Körpern ausgegangen wird. Es ist dabei bezeichnend, daß die im chemischen Sinne reaktionsfähigsten Substanzen im allgemeinen weitaus leichter lokal reizend wirken als die chemisch indifferenten Stoffe. Damit erscheint aber die Erklärung für einen gleichartigen Wirkungsmechanismus aller Reizstoffe äußerst schwierig, da die verschiedene chemische Reaktionsfähigkeit sich unzweifelhaft an der Haut in wechselnder Form auswirken muß. So kommt es unter der Einwirkung von Säuren und Laugen an der Haut zu hydrolytischen Prozessen, die Sulfide wirken oxydierend, der Alkohol dehydrierend, bei den Halogenen, Schwermetallen und beim Formalin finden Anlagerungs- und Fällungsreaktionen statt. Trotzdem fällt die Hautreaktion in all diesen Fällen gleichartig aus. Das besagt also, daß die chemischen Reaktionen als solche für den Ablauf des Hautprozesses ziemlich gleichgültig sind. Man kann dies bei den angeführten Beispielen um so eher annehmen, da all diese Chemikalien unmittelbar am Eiweiß bzw. an den eiweißähnlichen Verbindungen angreifen und dort etwa die gleichen Struktur- und Funktionsänderungen setzen. Der gleichartige Ausfall der Hautveränderungen beruht daher bei ihnen trotz der verschiedenen chemischen Affinität auf einem nahezu gleichartigen inneren Gewebsgeschehen.

Es gibt aber genügend andere Reizstoffe, bei denen diese Erklärung nicht stand hält, da eine Beeinflussung der kolloidalen Zellbestandteile

primär nicht erfolgt. Versuche an Eiweißlösungen (SCHLIACK[8]) sprechen jedenfalls dafür, daß durch Histamin die Beschaffenheit der Eiweißkörper nicht unmittelbar verändert wird. Auch beim Senföl, Veratrin und Colchizin dürften derartige Vorgänge nicht in erster Linie als Ursache der Reizerscheinungen in Frage kommen. Trotzdem läuft auch hier das äußere Wirkungsbild genau so einförmig ab. Die Hautreaktion kann also unmöglich allein von der Eigenart des reizenden Agens abhängen; denn dann müßten die qualitativen und quantitativen Verschiedenheiten im sichtbaren Erscheinungsbild stärker zum Ausdruck kommen. Der entscheidende Faktor, von dem aus der Mechanismus der lokalen Giftwirkung beherrscht wird, muß vielmehr im Hautgewebe selbst liegen. Das heißt aber, daß die Reaktion in erster Linie von der Haut geformt wird und das Gift sie nur auszulösen vermag. Deshalb kann es praktisch trotz der außerordentlichen Mannigfaltigkeit der Reizstoffe auch nur einen Reaktionstypus geben. Die oberflächlichen Gewebe haben genau wie die anderen Gewebsstrukturen nicht beliebig viele Möglichkeiten, um auf endogene und exogene Reize zu antworten; auch sie können nur wie Muskel und Nerv im Rahmen ihrer natürlichen Zell- und Organleistung auf den Reiz reagieren, und zwar mit einer Abwandlung ihrer normalen Funktion. Es kommt also unter der Einwirkung von Reizstoffen zu einer Steigerung oder Herabsetzung der Organleistung, nicht aber zu einem anders gearteten Lebensprozeß oder einer neuartigen Hautfunktion — es sei denn, daß der Eingriff bereits primär jedes erträgliche Maß überschreitet, wie z. B. bei einer Verbrennung, wo augenblicklich eine tiefgreifende Schädigung mit einem bleibenden oder vorübergehenden Funktionsausfall eintritt. Abgesehen von solch rein toxischen Wirkungen dürfte die typische Antwort auf jeden Reiz, gleichgültig welcher Art, darin bestehen, daß in der Haut endogene Faktoren freigesetzt werden. Auf diese Weise wird der äußere Reiz gleichartig umgeformt und auf innere Gewebsprozesse umgeschaltet, die bereits in der Norm präformiert in der Zelle vorliegen. So ist z. B. Histamin wahrscheinlich innerhalb der Hautzelle in einer unwirksamen Vorstufe enthalten, vielleicht in Form einer Bindung und Anlagerung an andere Stoffe, wobei es nach der Reizung in die aktive Form übergeht. In den oberflächlichen Geweben kann Histamin dabei besonders gut wirken, da nach BEST und MACHENRY[9] in der Haut die histaminzerstörende Histaminase fehlt. Das gleiche äußere Wirkungsbild erklärt sich also im allgemeinen dadurch, daß alle Reizwirkungen an der Haut auf einem gemeinsamen oder wenigstens ähnlichem Wirkungsprinzip beruhen.

Wahrscheinlich sind außer dem Freiwerden von Histamin noch Reizüberträger anderer Art möglich. So hat z. B. KAPLANSKY[10] bei Ultraviolett-Lichtbestrahlungen derartige Veränderungen im Kationengehalt

gefunden, daß dadurch eine Verschiebung der aktuellen Reaktion bis zur sauren Seite eintrat. Für die Freisetzung saurer Stoffwechselprodukte als Reizüberträger finden sich sonst keine Angaben. Man ist nur allgemein der Ansicht, daß die Entzündung der Haut eine Säuerung des Gewebes zur Folge hat. Es ist demnach zu klären, welcher Vorgang primär stattfindet, und ob die Säuerung des Gewebes also eine notwendige Voraussetzung oder nur als eine Folgeerscheinung der Entzündung anzusehen ist. Es scheint dabei näher zu liegen, die letztere Erklärung als die richtige anzusprechen.

Nach Dale und Gaddum[11] ist außerdem bei den Gefäßreaktionen Acetylcholin als Überträgersubstanz beteiligt. Dies braucht aber nicht unbedingt als spezifische Reaktion der Reizstoffe angesehen zu werden, da dieser Stoff nahezu bei jeder nervösen Reizung freigesetzt wird. Außerdem hemmt Histamin die Aktivität der Cholinesterase (Wense[12], Ammon[13] und Heim[14]) und besitzt eventuell so eine Möglichkeit, den Einfluß von Acetylcholin zu steigern. Jedenfalls sind auch diese Befunde im Sinne einer sekundären Beteiligung des Überträgermechanismus auslegbar.

Ähnlich ist auch für die adenosinartigen Stoffe bisher nicht eindeutig erwiesen, daß sie in gleichem Umfang wie das Histamin als direkte Vermittler für die Hautreaktion im Gefolge von äußeren Reizen notwendig sind. Adenosinverbindungen können zwar vermehrt in der Haut auftreten (Zipf[15]); wahrscheinlich stellen sie ebenfalls nur Begleiterscheinungen dar, die vereinzelt im Gefolge der sensiblen Reizwirkung oder sekundär bei Gefäßreaktionen entstehen. Sie brauchen jedoch nicht auf einer unmittelbaren Beeinflussung des Zellstoffwechsels beruhen. Damit würden sie aber wiederum zu den indirekt ausgelösten Wirkungen der Reizstoffe gehören. Dieser Vorstellung entsprechen auch die Befunde von Gollwitzer-Meyer und Bingel[16], die im Kantharidin-Blaseninhalt regelmäßig Histamin, aber nur ein einziges Mal Adenosin vermehrt nachweisen konnten.

Wenn man also die Entstehung der Reizeffekte im Beginn der Wirkung deuten will, so ergibt sich zusammenfassend, daß in der Regel zunächst eine Reizung der sensiblen Nervenendigung gleichzeitig mit einer Beeinflussung des Zellgewebes erfolgt. Diese führt zur Freisetzung endogener Faktoren, vor allem in Form von Histamin oder histaminähnlichen Stoffen, die ihrerseits wiederum eine Nervenirritation bedingen, ferner die Gefäße direkt und reflektorisch auf dem Wege dieser Nervenbeeinflussung erweitern und endlich Quellung im Gewebe verursachen. Das Erythem an der Applikationsstelle selbst entsteht somit auf chemischem, die Hyperämie in der Umgebung auf reflektorischem Wege, und die Quellung ist Folge und Hauptsymptom der Entstehung permeabilitätssteigernder und quaddelbildender Substanzen.

Diese Deutung kennzeichnet nur die anfänglich auftretenden Hautveränderungen. Sie dürfte nicht mehr ausreichen, wenn man über die ersten Stadien hinaus den inneren Gewebsmechanismus im einzelnen ursächlich analysieren will. Schon die äußeren Hauterscheinungen können im weiteren Verlauf und in den späteren Entwicklungsstadien ganz erheblich voneinander abweichen. Es können sich somit aus der gleichen Anfangslage recht unterschiedliche Folgeerscheinungen entwickeln. Wenn man daher das gesamte Wirkungsbild als Maßstab für die Beurteilung der Reizstoffe zugrunde legt, so ergeben sich beträchtliche morphologische Unterschiede, die sich etwa auf 3 Gruppen aufteilen lassen (Oettel[17]). Zunächst gibt es einige wenige Stoffe, wie die Äther der aliphatischen Reihe und die gesättigten Alkohole mit unverzweigter Kette, bei denen die Reizwirkung immer und ohne Ausnahme auf eine Nervenirritation, Rötung und Quaddelbildung beschränkt bleibt. Selbst bei einer Verlängerung der Applikationsdauer und Anwendung maximaler Konzentrationen bleibt der Reizeffekt sehr gering. Infolgedessen klingt er mit Entfernung des äußeren Reizes nach kurzer Zeit restlos ab.

Die meisten anderen chemischen Verbindungen mit hautreizenden Eigenschaften üben dagegen bei genügend langer Zufuhr noch eine Nachwirkung aus, die erst nach Entfernung des reizenden Agens auftritt. Die Nachwirkung tritt allerdings nur auf, wenn die Haut im akuten Versuch eine Zeitlang mit den Reizstoffen in Berührung gestanden hat. Bei unterschwelligen Zeitdosen fehlt sie völlig, selbst wenn der Reiz in maximaler Stärke über kurze Zeit eingewirkt hat. Außerdem verläuft die Nachwirkung in der Regel weit intensiver als der Reiz, der unmittelbar während der Applikation erfolgt. Es bestehen also deutliche Unterschiede gegenüber den akuten Reizeffekten, da diese weder durch die Dosierung noch durch die zeitliche Einwirkungsdauer zu steigern sind. Rein äußerlich zeigt die Nachwirkungsperiode das gleiche Hautbild mit subjektiven Empfindungssymptomen sowie Rötung und Quaddelbildung. Dazu kommt meistens noch eine Pigmentation und Blasenbildung. Während aber die akute Wirkung bei allen Stoffen etwa gleichartig und schwach verläuft, fällt die Nachwirkung meist sehr kräftig aus. Außerdem sind erhebliche quantitative Unterschiede an der Haut oder an anderen Geweben in der Wirkungsintensität zu erkennen, so daß man für jeden Stoff einen typischen Reaktionsablauf festlegen kann.

Als Wirkungsmechanismus kommt bei der Nachwirkung Histamin wahrscheinlich nicht in Betracht, da die Histaminfreisetzung zeitlich begrenzt ist, und ein Anstieg des Hauthistamins in den meisten Fällen während der Nachwirkungsperiode nicht mehr nachweisbar ist. Soweit Blasenbildung auftritt, sprechen auch die Untersuchungen von Hahn und Schröder[18] gegen die Histaminnatur des auslösenden Agens, da

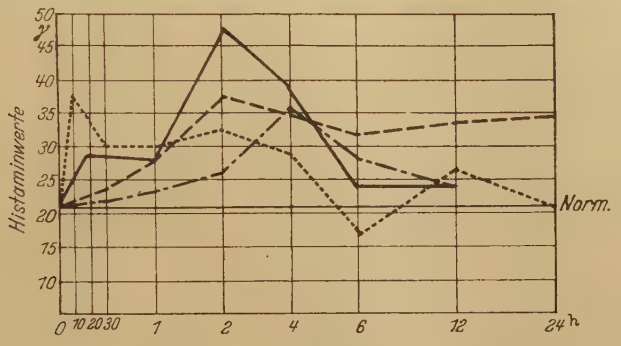
jene Substanzen, die die Histaminentstehung begünstigen, auf die Blasenbildung hemmend wirken und umgekehrt. Außerdem wiesen LEWIS[7], FELDBERG und SCHILF[19] und DALE[20] schon darauf hin, daß durch die primäre Schädigung wahrscheinlich andere Stoffwechselprodukte entstehen, die das Weiterschwehlen des Hautprozesses unterhalten, während Histamin ihn einleitet. Es ist daher wohl richtig, wenn man in der Nachwirkung eher eine Folgeerscheinung des primär entstehenden Überträgermechanismus, sowie der dadurch bedingten Exsudationsvorgänge und mangelnden Sauerstoffversorgung sieht.

Die dritte Gruppe umfaßt endlich die entzündungserregenden Substanzen sowie die lokal ätzenden und nekrotisierenden Gifte, für die die alte Materia medica ausschließlich die Bezeichnung Hautreizstoffe gelten läßt. Auch hier beginnt die Wirkung mit Hautrötung und Quaddelbildung, zumal wenn die Reize in entsprechend abgestufter Dosierung und Einwirkungszeit gesetzt werden. Im weiteren Verlauf gestaltet sich jedoch das Wirkungsbild wesentlich komplexer und differenzierter, sowie abwechslungsreicher. Der Prozeß schreitet stufenweise immer weiter fort, greift von relativ flüchtigen Eingriffen zu pathologischen, noch nicht entzündlichen Veränderungen über, um dann zur vollen entzündlichen Reaktion auszureifen und schließlich eventuell auf einen irreversiblen Hautschaden hinzusteuern. Die Abhängigkeit von Dosis und Einwirkungszeit ist dabei so deutlich, daß man den Eindruck gewinnt, die Stärke der Schädigung hängt in linearer Funktion von diesen beiden Faktoren ab.

In den beiden ersten Gruppen von Reizstoffen läuft also die Wirkung mit unbedeutender Stärke mehr in Form einer flüchtigen Funktionsstörung ab, auch wenn die Reizintensität in maximaler Stärke gesetzt wird. Demgegenüber können bei den entzündungserregenden und reizenden Stoffen recht erhebliche Hautprozesse auftreten, wobei allerdings selbst die schwersten Veränderungen stets durch funktionelle und flüchtige Erscheinungen eingeleitet werden. Bei geeigneter Abstufung von Dosis und Einwirkungsdauer kann daher der gesamte Effekt auch bei den ätzenden und nekrotisierenden Giften auf die ersten Wirkphasen beschränkt bleiben. In diesen Anfangsstadien verhält sich das äußere Wirkungsbild auch in der dritten Gruppe von Substanzen genau wie bei den mild wirkenden Reizstoffen.

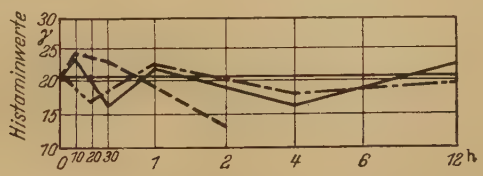
Man könnte daher eigentlich schließen, daß im Beginn der Wirkung selbst in dieser Gruppe der gleiche innere Zellmechanismus abrollt, daß also auch hier die Histaminfreisetzung als Wirkfaktor von entscheidender Bedeutung ist. Im weiteren Verlauf, wo das gesamte Wirkungsbild sich komplexer gestaltet, kommt man allerdings mit der Annahme eines einzigen Überträgerprinzipes als Ursache und Erklärung für die Entstehung von Entzündung oder Nekrose nicht mehr aus. Es gelingt

jedenfalls nie, durch hohe Histamindosen, selbst an der verletzten Haut, derart intensive Schädigungen zu setzen, daß daraus eine echte Entzündung oder Ätzung resultiert. Die Ursache für den fortschreitenden



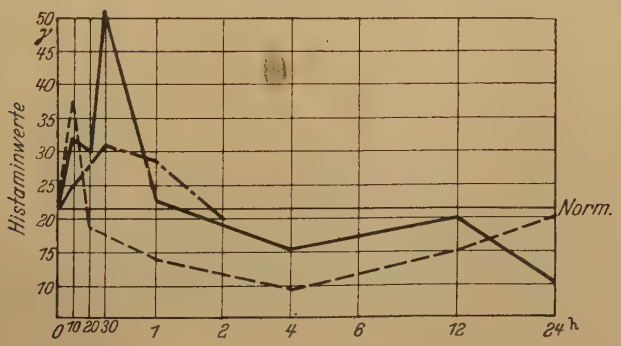
a

——— Kantharidin 10% in Azeton; – – – Tc. Capsici; ----- Krotonöl; –·– Terpentinöl.



b

– – – Ameisensäure 58%; ——— Milchsäure 90%; –·– Arsenik 20% in Glyzerin.



c

——— Dichlordiaethylsulfid; – – – Senföl unverdünnt; –·– Senföl 1:2500 in Azeton.

Abb. 1 a—c. Histamingehalt der Rattenhaut. Zeitlicher Verlauf nach der Einwirkung verschiedener Reizstoffe.

Gewebsprozeß muß also wohl in einer ganzen Kette und Folge von Reizen gesehen werden, bei der sich vermutlich äußere und innere Faktoren ineinanderschieben und gegenseitig verstärken. Diese Auffassung wurde von pathologischer Seite schon immer als die ursächliche Grundlage für die Entstehung der entzündlichen Prozesse vertreten. Das

Histamin kann also nur in den ersten Entwicklungsphasen von Bedeutung sein.

Wenn man aber den Histamingehalt im Hautextrakt direkt bestimmt, so zeigen sich gerade in dieser dritten Gruppe von Substanzen, trotz des etwa gleichartigen anfänglichen Wirkungsbildes, charakteristische Unterschiede, die es gestatten, 2 Gruppen von einander abzugrenzen (HAAS[21]). Diese sind dadurch gekennzeichnet, daß nur ein Teil dieser Reizstoffgruppe eine Zunahme von Histamin bewirkt, während andere trotz des Auftretens etwa gleich starker Hautveränderungen den Histaminbestand der Haut völlig unbeeinflußt lassen. Mit einem gewissen Recht kann man sogar eine dritte Untergruppe abtrennen, wenn man die zeitlichen Verhältnisse beim Anstieg des Hauthistamins berücksichtigt. Unter den histaminausschüttenden Reizstoffen gibt es einzelne, wie Senföl und Dichloräthylsulfid (s. Abb. 3), bei denen das Histamin nicht längere Zeit vermehrt bleibt, sondern nach kurzem Anstieg bis unter die Norm absinkt. Wenn man die Senföldosierung genügend abstuft, so verwischen sich diese Unterschiede (HAAS[22]). Bei schwacher Dosierung schüttet auch Senföl über eine längere Zeitdauer vermehrt Histamin aus. Nur in konzentrierter Form bewirkt demnach dieser Stoff schon nach kürzester Zeit eine beträchtliche Schädigung der Haut, die mit einer Histaminfreisetzung nicht immer vereinbar ist. Dies stimmt mit den Befunden an der menschlichen Haut überein, wo unverdünntes Senföl schon nach 10 Min. langer Einwirkung einen Defekt der oberen Zellschichten hervorruft (OETTEL[17]).

Vergleicht man nun die beiden Hauptgruppen mit den vorliegenden Einteilungsvorschlägen auf dem Gebiet der Hautreizstoffe, so ergibt sich, daß die histaminfreisetzenden Substanzen etwa identisch sind mit den eigentlichen hautreizenden und entzündungserregenden Stoffen. Andererseits fallen die Pharmaka, die das Hauthistamin trotz des Eintritts sichtbarer Reizerscheinungen nicht beeinflussen, abgesehen vom Azeton mit den nekrotisierenden und zelltötenden Giften zusammen. Azeton ist nach den Untersuchungen von OETTEL[17] auch bei langer Einwirkungsdauer völlig unwirksam. Die Histaminausscheidung spielt also bei den in der Haut ablaufenden Prozessen überhaupt keine Rolle, wenn von vorneherein eine schwere Schädigung und Verletzung der Gewebszelle erfolgt. Es bestätigt sich somit die von LEWIS[7], FELDBERG und SCHILF[19] bereits vertretene Ansicht, daß Histamin nur bei relativ schwachen Reizwirkungen vermehrt zur Ausscheidung gelangt. Bei stärkeren Reizen ist seine Wirkung bereits zeitlich begrenzt; bei einer echten Zellschädigung fällt seine Funktion überhaupt aus.

Dieses verschiedenartige Verhalten des Hauthistamins steht wahrscheinlich in Abhängigkeit von besonderen und getrennten Angriffspunkten der einzelnen Reizstoffe innerhalb der lebenden Zelle. Es gibt

somit offenbar sehr tiefgreifende und wesensmäßige Unterschiede im Wirkungscharakter, für die das Histamin nur Symptom und experimentell leicht faßliches Zeichen ist. Jedenfalls sprechen eine Anzahl von morphologischen Befunden an der Haut (Hamperl, Henschke und Schulze[23], Dörfel und Pöpping[24], Flury und Wieland[25], Lillie, Clowes und Chambers[26]) sowie die Untersuchungen von Brock, Druckrey und Herken[27] an Seeigeleiern dafür, daß die Substanzen, die eine Freisetzung von Histamin herbeiführen, in erster Linie eine Schädigung oder eine Reizung des Zellkerns bewirken. Bei der zweiten Gruppe, wo das Histamin nicht beeinflußt wird, dürfte es sich dagegen vorwiegend um Zytoplasmagifte handeln. Ähnlich konnte an Muscheleiern eine Änderung des Kerninhaltes und der Plasmastrukturen unter dem Einfluß von Hautreizstoffen nachgewiesen werden (Haas[28]). Die Ermittlung der oberen Grenzkonzentrationen, die am Kern bzw. Plasma Trübung und Gerinnung bewirken, führte auch hier zu der Feststellung, daß einzelne Reizstoffe eine spezifische Wirkung auf den Zellkern besitzen, während andere bevorzugt das Zytoplasma schädigen. Es besteht dabei eine auffallende Parallele zu dem Histamingehalt der Rattenhaut, indem die kernschädigenden Gifte mit den histaminausschüttenden Substanzen identisch sind, während umgekehrt die protoplasmaschädigenden Stoffe die Freisetzung von Histamin vermissen lassen. Die Möglichkeit eines tatsächlichen Zusammenhanges ist natürlich mit diesen Beobachtungen noch nicht bewiesen, aber immerhin als Arbeitshypothese vertretbar.

Tabelle 1. *Histamingehalt der Haut.*

Vermehrt	Unverändert
Dichlordiaethylsulfid	Milchsäure
Senföl	Trichloressigsäure
Kantharidin	Ameisensäure
Kapsi um	Spiritus formicarum
Krotonöl	Arsenik
Terpentinöl	Azeton
Kolchizin	Veratrin?
Emetin	
Koffein	
Allylformiat	
Ammoniak	
Sublimat	
Nikotin?	

Die Annahme, daß der Zellkern eine wesentliche Rolle für die Histaminentstehung in der Zelle spielt, ist zudem mit den chemisch-physiologischen Vorstellungen recht gut vereinbar. Die im Kern vorkommenden Nukleoproteide enthalten reichlich Histone in salzartiger Verbindung mit Nukleinsäuren. In der Zusammensetzung der Histone aus einfachen Aminosäuren nimmt das Histidin einen beträchtlichen Platz ein. Es wäre daher denkbar — zumal Wels[29] eine chemische Umwandlung der Eiweißmoleküle im Zellkern unter dem Einfluß exogener Reize wahrscheinlich machen konnte —, daß bei einer Kernschädigung eine Beeinflussung der Nukleoproteide unter Abspalten der Eiweißkomponente und sekundärer Freisetzung von Histamin erfolgt.

Tabelle 2.

Substanz	Notwendige Konzentration in γ/ccm für						Histaminfreisetzung
	Seeigelei*			Muschelei**			
	I. Stoffwechselwirkung	II. Hemmung der Zellteilung	$\frac{I.}{II.}$	I. Plasmaschädigung	II. Kernschädigung	$\frac{I.}{II.}$	
Allylformiat . .	2 000	200	10	2 000	10	200	+
Koffein	>3 000	500	>10	20 000	500	40	+
Kolchizin . . .	>1 500	1,5	1000	5 000	25	200	+
Emetin	100	5	20	50	1	50	+
Nikotin	10 000	165	60	20 000	50	400	+
Sublimat. . . .	30	1,5	20	10	0,2	50	+
Arsen	100	150	0,7	100	20	5	—
Säuren	~n/7000	~n/500	~0,1				
Ameisensäure .				20	2	10	—
Milchsäure . . .				100	20	5	—
Veratrin	50	500	0,1	100	1	10	—

DUSTIN[30], dem wir die ersten Feststellungen über die Eingriffe von Pharmaka im Kerngeschehen verdanken, wies schon darauf hin, daß bei den sog. karyoklastischen Giften im morphologischen Bild deutliche Wirkunterschiede zu erkennen sind. Das gleiche fand sich auch bei den Untersuchungen von BROCK, DRUCKREY und HERKEN[31] an Seeigeleiern. Je nach der Natur des kernschädigenden Agens fällt die zweite Schädigung im Anschluß an eine vorhergehende Kerneinwirkung verschieden aus. So wirkt sich eine Zweitschädigung nach einer vorangehenden Kolchizineinwirkung anders aus, als nach vorangehender Koffeineinwirkung, obwohl beide in die Gruppe der karyoklastischen Gifte gehören. Die Ergebnisse von LETTRÉ[32] an Zellkulturen beweisen dies noch deutlicher, da von den zahlreichen kernschädigenden Giften nur einzelne störend in den Mitoseablauf eingreifen. Aus der gesamten Gruppe der Reizstoffe mit kernschädigenden Eigenschaften gehört überhaupt nur das Colchizin zu den echten Mitosegiften. Es gibt also selbst innerhalb der kernschädigenden Gifte noch Unterschiede im Wirkungsmechanismus, die allerdings einer näheren Differenzierung bedürfen.

Ähnlich bestehen auch Unterschiede bei den örtlichen Reizgiften mit protoplasmaschädigenden Eigenschaften. So konnte MEYER[33] an Hefekulturen drei Wirkungstypen von Reizstoffen abgrenzen, je nachdem ob die Atmungs- oder Gärungsvorgänge gleichartig und gleichzeitig gehemmt wurden, oder ob Atmung und Gärung in verschiedener Weise beeinflußt waren. Es gibt demnach doch gewisse Möglichkeiten,

* Nach Versuchen von BROCK, DRUCKREY und HERKEN[27].
** Nach Versuchen von HAAS[28].

die Reizstoffe in ihrer Wirkung und ihrer Folgeerscheinung zu differenzieren und unter Umständen auch quantitativ zu erfassen, wenn man die in der Zelle ablaufenden Vorgänge chemisch und biologisch näher zu analysieren versucht.

Bei den sog. entzündungserregenden und gewebsschädigenden Substanzen ist für die ersten Wirkstadien noch eine weitere Fragestellung zu erörtern. Der Begriff „Reiz" wird bekanntlich mit wechselnder Sinngebung und in verschiedener Bedeutung gebraucht. Heubner[2] wies schon darauf hin, daß sprachlich „reizen" und „ritzen" miteinander verwandt sind. Reizstoffe wären demnach lokal angreifende Stoffe, die eine Gewebsschädigung setzen. Eine ausschließliche Definition des Reizvorganges im Sinne einer Gewebsschädigung vernachlässigt aber die Tatsache, daß wir auch physiologische Vorgänge als Reiz bezeichnen. Hierbei setzen wir voraus, daß diese Art von Reiz nicht auf eine Schädigung der Zelle hinzielt, sondern einer Anregung und Stimulation der Zelltätigkeit dient. Es fragt sich nur, ob es außerhalb der nervös, drüsig und muskulär differenzierten Gewebselemente eine Funktionsförderung im Sinne einer Zellerregung gibt, und ob sich gerade unter den sog. Reizstoffen und entzündungserregenden Substanzen Pharmaka mit einer echten zellerregenden Wirkung finden. Bei den spezifisch wirksamen Pflanzenauxinen und bestimmten Hormonen ist z. B. nicht zu bezweifeln, daß sie eine wachstumsfördernde Wirkung besitzen. In Parallele hierzu hat man mit verschiedenen experimentellen Methoden an zahlreichen Gewebselementen geprüft, inwieweit die entzündungserregenden und schädlichen Stoffe wachtstumserregend und stoffwechselfördernd wirken, falls sie in geeigneter Dosis zur Anwendung kommen. Heubner und seine Mitarbeiter (Heubner und Schreiber[34], Meyer[33], Orzechowski[35], Handovsky, Du Bois, Reymond und v. Strantz[36], Brock, Druckrey und Herken[27]) haben sich vor allem mit dieser Frage beschäftigt und in zahlreichen Versuchsreihen an Zellkulturen, Hefezellen, Protozoen, Seeigeleiern und Blutkörperchen die Entwicklungs- und Wachstumsbedingungen sowie die Atmungs- und Gärungsprozesse unter dem Einfluß von Hautreizstoffen geprüft. Das Resultat dieser Versuche bestand aber nur darin, daß eine Stimulation der Lebensvorgänge und eine gesteigerte Funktion unter dem Einfluß von Reizstoffen nicht stattfindet. Lediglich bei Koffein fand Druckrey und Schreiber[37] an Gewebskulturen von Fibroblasten einen fördernden Einfluß auf das Wachstum, bei dem es sich offensichtlich um einen echten, außerhalb der natürlichen Variationsbreite liegenden Effekt handelt.

Alle übrigen Befunde sind so eindeutig gesichert, daß auch gegenteilige Beobachtungen von japanischen Autoren (s. Heubner und Schreiber) diese Auffassung nicht zu widerlegen vermögen. Erst recht entbehren die vielfach angeführten Untersuchungen von Hugo

SCHULZ und das davon abgeleitete ARNDT-SCHULZsche Gesetz über die regelmäßige Steigerung der Lebenstätigkeit durch kleine Dosen jeder Beweiskraft. Ähnliches gilt auch für die älteren Untersuchungen auf dem Gebiet der Bakteriologie (HUEPPE[38], SÜPFLE[39], COBET und VAN DER REIS[40]), nach denen Desinfektionsmittel in kleineren Dosen unterhalb der wachstumshemmenden Schwelle die Entwicklung der Mikroorganismen begünstigen sollen. Einwandfreie Nachuntersuchungen haben gezeigt, daß diese angeblich positiven Befunde auf einer ungeeigneten Versuchsanordnung bzw. auf einer fehlgreifenden Deutung der Versuchsergebnisse beruhen.

Trotzdem ist nicht zu leugnen, daß diese Stoffe im Zellverband des höher entwickelten Organismus die Zelltätigkeit anregen. So gibt es bekanntlich bei entzündlichen Vorgängen und Reizzuständen eine vermehrte Zellaktivität, eine gesteigerte Phagozytose und eine zunehmende Zellneubildung. Nach dem Ausfall der Versuche an isolierten Reinkulturen können aber alle diese Vorgänge nicht mehr als unmittelbare Folge des einwirkenden Reizmittels angesehen werden. Es muß sich vielmehr um sekundäre Erscheinungen handeln, die am Anschluß an die primär gesetzten Veränderungen erst auftreten. Alle Anzeichen für eine gesteigerte Zellaktivität sind demnach als Abwehrmechanismus zu deuten, mit dem der intakte Zellverband auf die Zerstörungs- und Funktionshemmung bestimmter Zellbestandteile antwortet. Am undifferenzierten Gewebe, wo dieses Zusammen- und Wechselspiel verschiedener Zellarten nicht gegeben ist, fehlt damit auch die entscheidende Voraussetzung, aus der sich erst das komplexe Geschehen der Gewebsreizung und -schädigung entwickeln kann. Im lebenden Hautgewebe werden also wohl direkt erregende Wirkungen an den sensiblen Nervenendigungen gesetzt. Wie aber die Stromazelle selbst im Gewebe gereizt werden kann, wie wir uns etwa eine Erregung zu denken haben, die die Bindegewebszelle trifft und sie zur Proliferation anregt, das ist noch völlig unklar. Wahrscheinlich gibt es überhaupt an diesen Gewebsbestandteilen keine direkte Erregung, die unmittelbar durch den chemischen Reiz verursacht ist. Der Reizeffekt, den wir schließlich sehen, ist vielmehr mittelbarer Art, vermittelt und ausgelöst durch den freigesetzten Gewebsstoff. Ebenso fehlt bisher jeder eindeutige Beleg dafür, daß der chemische Reizstoff direkt das Gefäß trifft und eine Gefäßerweiterung hervorruft. Auch hier bedarf es erst der zwischengeschalteten Gewebsfaktoren.

Die Frage nach dem Vorliegen einer echten Zellerregung unter dem Einfluß von Reizstoffen und entzündungserregenden Substanzen ist noch von einer anderen Seite aus zu beleuchten. Bekanntlich treten bei der Reizung von Muskel und Nerv elektrische Ströme auf. Auch an der Haut kommt es nach der Reizung zu elektrischen Phänomenen,

die in Form einer Polarisationsabnahme meßbar sind. Diese Vorgänge sind als unmittelbarer Ausdruck einer Erregung aufzufassen und beruhen auf einer vermehrten Permeabilität der Zellgrenzflächen. So nimmt z. B. nach Ebbecke[6] bei mechanischen und thermischen Reizen der Gleichstromwiderstand der Haut für einige Zeit ab. Das gleiche tritt auch bei der Ultraviolett-Lichtbestrahlung ein, und zwar unabhängig von der lokalen Reizung und Durchblutung der Haut.

Wendet man diese Untersuchungsmethoden aber bei chemischen Stoffen an, so ergeben sich bei den einzelnen Substanzen verschiedenartige Befunde (Ebbecke[6], Cobet und Lueg[41], Diehl[42]). So sind nach Terpentin und Kantharidin keine Änderungen des elektrischen Hautwiderstandes von wesentlichem Umfang beobachtet worden. Histamin und Senföl sind in der Regel wirkungslos. Einen sicheren Effekt zeigen Jod sowie verschiedene Säuren und Laugen in geeigneter Konzentration. Bei diesen letzten Stoffen muß man aber daran denken, daß der Permeabilitätsanstieg auch durch eine Membranschädigung verursacht sein kann. Insgesamt ist somit auch von dieser Seite aus die Frage, ob Erregung oder Schädigung, nicht sicher zu lösen.

Außerdem läßt selbst ein reversibler Permeabilitätsanstieg keineswegs mit Sicherheit darauf schließen, daß eine Zellerregung stattgefunden hat. Brock, Druckrey und Herken[31, 42] konnten bei ihren Versuchen an Seeigeleiern und Warmblütergeweben nachweisen, daß physiologische und unphysiologische Reize in gleicher Weise eine charakteristische Änderung des Stoffwechsels auf der Grundlage einer vermehrten Permeabilität bewirken. Das Ausmaß der Stoffwechselreaktionen ist von der Schwere der Schädigung abhängig. Stärker schädigende Eingriffe haben eine Nachwirkung. Infolgedessen vermag das geschädigte Gewebe auf einen zweiten Reizstoff nicht mehr mit einer Stoffwechseländerung zu antworten. Für die physiologische Erregung ist dagegen charakteristisch, daß nach mehrfacher Wiederholung des Reizes stets die gleiche Stoffwechselreaktion erfolgt. Bei genügender Abstufung der quantitativen Verhältnisse läßt sich erreichen, daß auch schädigende Eingriffe ebenso wie die physiologische Erregung bei wiederholter Anwendung stets zur gleichen Reaktion führen. Es gibt somit keinen prinzipiellen Gegensatz zwischen einer physiologischen Erregung und einer unspezifischen Schädigung. Es bestehen hierbei vielmehr Übergänge und Beziehungen zueinander.

Dafür sprechen auch die Befunde von J. Loeb[44] durch die bekanntlich nachgewiesen ist, daß zahlreiche schädigende Stoffe am unbefruchteten Seeigelei künstliche Befruchtung auslösen können. Diese künstliche Parthenogenese geht mit der gleichen Permeabilitätszunahme und Stoffwechselreaktion einher wie eine unspezifische Schädigung und wie der natürliche Befruchtungsvorgang. Die Ähnlichkeit all dieser

Tabelle 3.

Substanz	Wirksame Grenzkonzentrationen für						
	Hautreiz:			Reizempfindung an		Eiweißtrübung bzw. Viskositätsänderung	Zellschädigung an:
	unverletzt 1 Std. Einwirkungszeit	nach Kreuzritz	Freisetzung von Histamin	Auge	Mund		
Ammoniak	1:50	1:10000	1:10	1:10000	1:1000	1:500 Serum	1:60000 Bakterien Atmung[1]. 10000 Hefe Gärung[2]. 5000 Amöben Plasmaschädigung[2]. 10000 Paramäcien Schädigung[2]. 30000 Erythrozyten Hämolyse[3]. 1500 Seeigel Stoffwechselschädigung[4]. 15000 Seeigel Teilungshemmung[4].
				Histamin-Ausschüttung: Lunge 1:50000[17]			
Arsenik	100	1000	∅	1000	1000		1000 Hefe Atmungshemmung[5]. 1000 Hefe Gärungssteigerung[5]. 4000000 Paramäcien Entwicklungshemmung[6]. 10000000 Fibroblast Entwicklungshemmung[7]. 200000 Gänseblutkörp. Atmungshemmung[5]. 10000 Seeigel Stoffwechselschädigung[4]. 10000 Seeigel Teilungshemmung[4]. 10000 Muschelei Plasmaschädigung[8]. 50000 Muschelei Kernschädigung[8]. 2000000 Frosch Gefäßdilatation[9]. 600000 Frosch Gefäßdilatation[7].
				Histamin-Ausschüttung Darm ∅[19]			
Koffein natr. benz.	20	100	20	∅	∅		200 Paramäcien Plasmaschädigung [10]. 1000 Paramäcien Plasmaschädigung[2]. 30 Paramäcien Tod[10]. 330 Seeigel Plasmaschädigung[4]. 2000 Seeigel Teilungshemmung[4]. 50 Muschelei Plasmaschädigung[8]. 2000 Muschelei Kernschädigung[8]. 8000 Frosch Gefäßdilatation[7]. 8000 Frosch Gefäßdilatation[11]. 10000 Ratte Wachstumshemmung[4].

Kolchizin	∅	5000	1:10	1:1000	1:100	1:20 Serum ∅ Albumin	1:100 Paramäcien Tod[12]. 660 Seeigel Stoffwechselschädigung[4]. 66000 Seeigel Teilungshemmung[4]. 200 Muschelei Plasmaschädigung[8]. 40000 Muschelei Kernschädigung[8]. 100000000 Fibroblasten Mitosehemmung[13].
				Histamin-Ausschüttung: Darm ∅[19]			
Histamin	1000	500000		25000 —50000	1000	∅ Albumin ∅ Serum ∅ Gelatine	770 Paramäcien Entwicklungshemmung[6]. ∅ Seeigel Zellteilung[4]. ∅ Hefe Atmung und Gärung[14]. ∅ Frosch Gefäßedilatation und Adrenalinempfindlichkeit[9].
Allyl-Senföl	20000	2500	2500	200000	200000	∅ Albumin 4000 Serum ∅ Gelatine	500000 Hefe Atmungshemmung[5]. 500000 Hefe Gärungssteigerung[5]. 80000 Froschhaut Atmungshemmung[14]. 40000 Froschhaut Glykolysehemmung[14].
				Histamin-Ausschüttung: Lunge ∅[17, 18]			
Sublimat	50	10000	5	5000	10000	20000 Albumin 70000 Albumin[15] 50000 Globulin[15] 70000 Globulin[16] 5000 Serum 8000 Serum[15]	10000 Hefe Gärungshemmung[2]. 100000 Hefe Atmungshemmung[5]. 300000 Hefe Gärungshemmung[5]. 200000 Paramäcien Schädigung[2]. 50000 Paramäcien Schädigung[10]. 33000 Seeigel Stoffwechselschädigung[4]. 660000 Seeigel Teilungshemmung[4]. 100000 Muschelei Plasmaschädigung[8]. 5000000 Muschelei Kernschädigung[8]. 33000 Gänseblutkörp. Atmungshemmung[5]
				Histamin-Ausschüttung: Darm 1:3000000[19]			
Trichloressigsäure .	100	100000	∅	50000	10000	200 Albumin 500 Serum	50000 Muschelei Plasmaschädigung[8]. 500000 Muschelei Kernschädigung[8].
Veratrin	∅	10	∅	10000	200000	100 Albumin 50 Serum	1300 Vorticella Tod[10]. 2800 Paramäcien Tod[10]. 20000 Seeigel Stoffwechselschädigung[4]. 2000 Seeigel Teilungshemmung[4]. 10000 Muschelei Plasmaschädigung[8]. 100000 Muschelei Kernschädigung[8].

Literatur zur Tabelle 3.

[1] Meyerhoff: Pflügers Arch. **165**, 229 (1916). — [2] Bokorny: Pflügers Arch. **59**, 557 (1895); **64**, 262 (1896); **152**, 365 (1913). — [3] Gros: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **62**, 1 (1910). — [4] Druckrey u. Schreiber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 208 (1938). — Brock, Druckrey u. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 679 (1939). — [5] Meyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **122**, 129 (1927). [6] Handovsky, Du Bois Reymond u. v. Strantz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 288 (1923). — [7] Heubner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 129 (1925). — Dtsch. med. Wschr. **1933**, 39. — [8] Haas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 284 (1941). — [9] Heite: Diss. Berlin 1938. — [10] Korentschewsky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **49**, 7 (1903). — [11] Lendle u. Puhlmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 122 (1939). — [12] Hausmann u. Kolmer: Biochem. Z. **3**, 506 (1907). — [13] Lettré: Naturw. **35**, 75 (1946). — [14] Fleckenstein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **203**, 151 (1944). — [15] Haarmann: Biochem. Z. **314**, 1 (1941). [16] Geill: Biochem. Z. **216**, 165 (1929). — [17] Garan: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 250 (1938). — [18] Bartosch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 176 (1936). — [19] Bachmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 345 (1938).

Die Angaben über die wirksamen Grenzkonzentrationen für Haut und Schleimhaut sind entnommen bei Heubner, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 129 (1925), sowie Hummelsheim, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 227 (1923) bzw. eigenen Untersuchungen. Die eiweißschädlichen Konzentrationen in vitro wurden von Schliack: Diss. Leipzig 1945 bestimmt.

Vorgänge geht schließlich so weit, daß selbst bei der natürlichen Befruchtung die Zelle eine Zeitlang auf einen zweiten Reiz nicht mehr anspricht. Die Unterschiede zwischen physiologischer Erregung und einer unspezifischen künstlichen Schädigung verwischen sich also vollends. Es ist aus dem Permeabilitätsanstieg allein, selbst wenn er flüchtiger Natur ist, nicht ohne weiteres zu folgern, ob hier primär Schädigung oder Erregung vorliegt. Auch Ebbecke hat auf Grund seiner Versuche an der Haut schon betont, daß Reizwirkung und Reizschädigung ohne spezifische Grenzen ineinander übergehen.

Es dürfte sich demnach bei der Wirkung aller Reizstoffe, gleichgültig welchen Wirkungscharakters, letzten Endes immer darum handeln, daß sie eine Erregung einer sensiblen Nervenendigung setzen und gleichzeitig mehr oder minder ausgeprägt störend oder schädigend in die Zellfunktion der Stromazelle eingreifen. Zwischen den einzelnen Reizstoffen bestehen in der Hauptsache Unterschiede quantitativer Art im Kampfe um das gestörte Zellgleichgewicht. Diese quantitativen Abweichungen sind in erster Linie für den wechselnden Verlauf des äußeren und inneren Wirkungsbildes maßgeblich. Dies zeigt sich z. B. im Verhalten des Hauthistamins sehr deutlich, wo die Stärke der Schädigung darüber entscheidet, ob Histamin für längere oder kürzere Zeit freigesetzt wird bzw. überhaupt in Aktion tritt.

Es bleibt zum Schluß noch die Frage zu beantworten, ob es überhaupt berechtigt ist, Beobachtungen an Einzellern und Zellkulturen oder ähnliche biologische Vorgänge in Vergleich mit der lebenden Haut

zu setzen. Zu diesem Zwecke braucht man aber nur einmal die wirksamen Grenzkonzentrationen für die Freisetzung von Histamin, die Beeinflussung von Eiweißlösungen in vitro, sowie für die Schädigung von Protozoen, Blutzellen und isolierten Gewebskulturen in Vergleich mit den eben noch haut- und schleimhautschädigenden Konzentrationsbereichen zu betrachten. Für die in der Tabelle angeführten Ergebnisse kann dabei keineswegs der Anspruch erhoben werden, daß alle in der Literatur vorhandenen Daten restlos erfaßt sind.

Das Resultat ist im großen und ganzen ein paralleles Verhalten zwischen den hautschädigenden und histaminausschüttenden Konzentrationen, obwohl die Ermittlung der hautreizenden Grenzdosis im Selbstversuch an der menschlichen Haut vorgenommen wurde, während der Histamingehalt an der Rattenhaut ausgetestet war. Die schädigende Wirkung auf Einzeller und ähnliche Gewebselemente ist dagegen in der Regel mit den schleimhautreizenden Konzentrationen weitgehend identisch. Man gewinnt daher auch aus diesen Versuchen den Eindruck, daß selbst bei der Reizung der Schleimhäute in der Regel in den Zellen Veränderungen erfolgen, die nur im Sinne einer Funktionsstörung oder -schädigung zu deuten sind. Nur für einzelne Stoffe wie für Sublimat und Arsen, die durch eine relativ lange Latenzzeit des Wirkungseintrittes gekennzeichnet sind, liegen die schleimhautreizenden Dosen deutlich unterhalb der schädlichen Konzentration für Einzeller. Hier darf man somit erst recht mit einer Zellschädigung als auslösender Ursache für den Schleimhautreiz rechnen. Auch Koffein macht eine gewisse Ausnahme, die aber bei der geringen lokalreizenden Eigenschaften dieses Stoffes und bei der im übrigen relativ starken pharmakologischen Wirkung ohne weiteres verständlich erscheint.

Insgesamt sind somit diese abweichenden Befunde bei der verschiedenartigen Versuchstechnik nicht allzu hoch zu bewerten. Ein völlig andersgeartetes Verhalten zeigt nur Histamin, dem anscheinend jede direkte Zellschädigung mangelt. Auch Heubner[2] hat schon auf Grund seiner Untersuchungen betont, daß Zellwirkungen beim Histamin offensichtlich nicht in Betracht kommen.

Der Vergleich zwischen den hautschädigenden und eiweißschädigenden Konzentrationen in vitro lehrt schließlich, daß in der Regel der Hautreiz erst in einem Dosierungsbereich stattfindet, wo bereits eine Beeinflussung der Eiweißstruktur eintreten kann. Die Wirkung auf die Schleimhaut ist dagegen an Verdünnungen gebunden, die weit oberhalb der eiweiß- und hautschädigenden Konzentrationen liegen. Nur beim Sublimat wird die kolloidale Beschaffenheit des Eiweißes in vitro in den gleichen Konzentrationen umgewandelt, wo auch an der Schleimhaut Veränderungen auftreten. Die Sonderstellung des Histamins bleibt auch in dieser vergleichenden Untersuchungsreihe gewahrt, da bei ihm jede nachweisbare Beeinflussung von Eiweißlösungen selbst bei der Anwendung einer Konzentration 1:30 fehlt.

Das messende Verfahren im Tierversuch und die quantitative Methodik erweisen sich also auch auf dem Gebiet der Hautreizstoffe fruchtbringend für die Aufklärung ihres Wirkungsmechanismus und die Beurteilung der eigentlichen Zusammenhänge im inneren Zellgeschehen. Es soll allerdings nicht verschwiegen werden, daß alle bisher vorliegenden Ansätze nur als tastende Versuche zu bewerten sind.

Aber trösten wir uns mit G. C. Lichtenberg: „Die Wahrheit finden wollen ist Verdienst, wenn man auch auf dem Wege irrt." „Immer eine Spanne weiter. Gut! Noch besser! Neu! Noch neuer! Immer etwas dazu!"

Literatur.

[1] Meyer-Gottlieb: Experimentelle Pharmakologie, S. 635. Berlin 1933. — [2] Heubner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 129 (1925). — Dtsch. med. Wschr. **1933**, 39. — [3] Stary: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **105**, 76 (1925). — [4] Fleckenstein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **203**, 151 (1944). — [5] Bacq: Acta Biol. Belg. **1**, 165—168, 245—248 (1941); **2**, 58—63 (1942). — Bull. Acad. Med. Belg., Brux., VI. s. **7**, 108—134, 500—527 (1942). — Enzymologia (Nd.) **10**, 48—60 (1941). — Bacq u. Beandet: Acta Biol. Belg. **1**, 524—526 (1941). — Bacq u. Goffart: Acta Biol. Belg. **1**, 39—42, 171—173 (1941). — [6] Ebbecke: Pflügers Arch. **169**, 1 (1917); **190**, 230 (1921). — [7] Lewis: The blood vessels of the hum, skin and their responses. London 1927. — [8] Schliack: Diss. Leipzig 1945. — [9] Best and MacHenry: J. Physiol. (Brit.) **70**, 349 (1930). — [10] Kaplansky: Z. exper. Med. **63**, 102—104 (1928). — [11] Dale and Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **70**, 109 (1930). — [12] Wense: Z. Fermentforsch. **15**, 290 (1937). — [13] Ammon: Erg. Fermentforsch. **9** (1943). — [14] Heim: Klin. Wschr. **1946**, 115. — [15] Zipf: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 60 (1932). — [16] Gollwitzer-Meyer u. Bingel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173** (1933). — [17] Oettel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 641 (1936). — [18] Hahn u. Schröder: Z. klin. Med. **112**, 325 (1930). — [19] Feldberg u. Schilf: Histamin. Berlin: Springer 1930. — [20] Dale: Lanzet **216**, 1285 (1929). — [21] Haas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 161 (1941). — [22] Haas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 637 (1942). — [23] Hamperl, Henschke u. Schulze: Virchows Arch. **304**, 19 (1939). — [24] Dörfel u. Pöpping: Virchows Arch. **295**, 1 (1935). — [25] Flury u. Wieland: Z. exper. Med. **13**, 367 (1921). — [26] Lillie, Clowes and Chambers: J. of Pharm. a. exp. Ther. **14**, 75 (1919). — [27] Brock, Druckrey and Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 679 (1939). — [28] Haas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 284 (1941). — [29] Wels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 113 (1938). — [30] Dustin: Arch. exper. Zellforsch. **22**, 395 (1939). — [31] Brock, Druckrey u. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 451 (1938). — [32] Lettré: Naturw. **33**, 75 (1946). — [33] Meyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **122**, 129 (1927). — [34] Heubner u. Schreiber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 78, 98, 105 (1940). — [35] Orzechowski: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 229 (1935). — [36] Handovsky, Du Bois, Reymond u. v. Strantz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 273 (1923). — [37] Druckrey u. Schreiber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 208 (1938). — [38] Hueppe: Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie, S. 55. Wiesbaden 1896. Zit. nach Heubner u. Schreiber. — [39] Süpfle: Münch. med. Wschr. **1922**, 920. — [40] Cobet u. van der Reis: Biochem. Z. **129**, 73; **133**, 49 (1922). — [41] Cobet u. Lueg: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **125**, 343 (1927). — Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1925**, 249. — Pflügers Arch. **212**, 649 (1926). — Münch. med. Wschr. **1924**, 161. — [42] Diehl: Z. exper. Med. **100**, 145 (1937). — [43] Brock, Druckrey u. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 436 (1938); **193**, 711 (1939). — [44] Loeb: Die chemische Entwicklungserregung des Seeigeleies.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Weese).

Modellversuche zur therapeutischen (zellabdichtenden) Wirkung organischer und anorganischer Kalziumpräparate*.

Von

Fritz Hahn und Friedrich Bruns.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Zu den Problemen, denen sich Wolfgang Heubner[1] sein Leben lang mit unermüdlichem Interesse und Liebe hingegeben hat, gehört die Frage nach der physiologischen und pharmakologischen Wirkungsweise der Metalle und ihrer wirksamen Zustandsformen. Als leitenden Grundgedanken hat er die Komplexaffinität der Metalle herausgestellt. Sein Kampf galt der einseitigen Berücksichtigung der ionalen Reaktionsformen.

Diese Stellungnahme kennzeichnet auch sein jahrelanges Bemühen um das Kalziumproblem[2]. Gewisse Beobachtungen über die Wirkung zugeführten Kalziums am Zentralnervensystem, über seine kaliumantagonistische Wirkung am Herzen und seine therapeutische Wirkung auf Entzündungsvorgänge gaben die Argumente her, um auch dem nichtionalen Kalzium eine Bedeutung zuzusprechen. Die Mitberücksichtigung auch der schon normalerweise im Körper neben den Kalziumionen vorhandenen Kalziumformen für physiologische und pathologische Probleme findet sich später auch in den Arbeiten von Klinke[3] und Pohle[4].

In der Frage der physiologischen Kalziumwirkungen schließt sich allerdings Heubner[2] heute wieder der vor allem seit McLean und Hastings[5] allgemein anerkannten Lehre von der alleinigen Bedeutung der Kalziumionen an. Nach wie vor hält er aber für toxische und therapeutische Kalziumeffekte auch andere Möglichkeiten für gegeben, wobei er speziell an kolloidales Kalzium denkt.

Diese eigentlich pharmakologische Seite des Kalziumproblems ist ein durchaus noch ungenügend bearbeitetes Gebiet, für uns ein Anlaß, dieses Problem durch eigene Versuche in Angriff zu nehmen. Einige Ergebnisse, die wir heute hier in kurzer Form vorlegen können, dürften — ganz im Sinne des Altmeisters der deutschen Pharmakologie — geeignet sein, zu überprüfen, inwieweit die therapeutische Wirkung der

* Wolfgang Heubner zum 70. Geburtstag.

üblichen Kalziumpräparate nur vom Standpunkt der Ionenspaltung aus begriffen werden kann und inwieweit dies nicht der Fall ist.

Man ist in der Klinik heute hauptsächlich zu organischen Kalziumverbindungen übergegangen. Als bindende Anionen bzw. Komplexpartner sind hier besonders die Oxyfettsäuren (z. B. Kalziumglukonat) sowie die Brenzkatechindisulfosäure (im Selvadin) hervorgetreten. In den oxyfettsauren Salzen können die OH-Gruppen als Träger von Nebenvalenzen fungieren und eine partielle Komplexbindung des Kalziums bewirken. Diese gelegentlich vertretene Auffassung bedarf aber wohl noch einer genaueren Prüfung. Nur mit dieser Einschränkung ist auch der im folgenden manchmal zur Charakterisierung der Zustandsform des Kalziums verwendete Ausdruck „komplex" zu verstehen. Nur beim Selvadin handelt es sich um ein echtes „inneres Komplexsalz" (Schmidt[6]). Die Bevorzugung dieser Verbindungen wird meist aus der geringeren Toxizität [die z. B. beim Glukonat 2—4mal (Rothlin[7]), beim Selvadin sogar 5mal (Weese[8]) geringer ist als beim Chlorid] hergeleitet, ferner aus der besseren lokalen Verträglichkeit (Rothlin[7], Weilguny[9], Behrens und Wajzer[10], Weese[8]). Vom Standpunkt der Ionenhypothese sind diese Eigenschaften der organischen Verbindungen durchaus begreiflich: das Kalzium ist in ihnen „maskiert".

Auch die Verteilungsfragen können für die Toxizität eine Rolle spielen, wenn auch hierüber leider noch auffallend wenig bekannt ist, abgesehen vielleicht von der Arbeit von Kluge[11] über die Aufnahme von Kalzium in Mäusetumoren nach Zufuhr anorganischer und organischer Verbindungen. Eine direkte Betätigung des organischen Bindungspartners äußert sich aber schon in dem eigentümlichen mobilisierenden Effekt, den z. B. das Glukonat (Hermann[12]) und das Selvadin (Weese[8]) auf die Kalkdepots des Körpers ausüben. Es kommt zu einem allmählichen Einstrom von Kalzium ins Blut. Dadurch wird eine Herabsetzung der notwendigen Injektionsdosen ermöglicht, was wiederum vom Standpunkt der Toxizität aus zu beachten ist.

Nach der Ionenhypothese würde die Verlagerung der Kalziumwirkung und die Dämpfung der Ionenabgabe die einzige Aufgabe der organischen Anionen sein. Am Wirkungsort wären aber nur die Kalziumionen aktiv. Dies mag noch am ehesten für die toxische Wirkung zutreffen. Doch darf nicht unerwähnt bleiben, daß bereits Behrens und Wajzer[10] auf das gelegentliche Fehlen eines Parallelismus zwischen lokaler Reizwirkung und dem Dissoziationsgrad der Kalziumverbindungen hingewiesen haben.

Noch ganz undurchsichtig ist das Gebiet der *therapeutischen* Wirkung organischer Kalziumpräparate. Nur wo das Kalzium als Substituens wirkt (bei Hypokalkämie also), ist entsprechend der physiologischen

Aufgabe, die das Kalzium hierbei übernimmt, die Ionenabspaltung als der maßgebliche Effekt aller Kalziumverbindungen anzusehen. Ganz anders aber sind die Wirkungen, wenn wir es einem an sich nicht durch Kalziummangel geschädigten Organismus zuführen, wie es etwa bei der antiphlogistischen Kalziumtherapie der Fall ist. Sie sind nicht mehr eigentlich physiologisch. Sie sind auch nicht mehr so streng kalziumspezifisch, da das gesetzte Ziel der Antiphlogistose auch durch andere Mittel erreicht werden kann. Gerade diesem Umstand wird man am wenigsten gerecht, wenn man nicht die Gesamtheit aller Reaktionsmöglichkeiten eines Komplexes mit in Betracht zieht. So wird schließlich das Problem der therapeutischen Kalziumwirkung zu einem Problem der Wirkungsweise therapeutischer Kalziumpräparate im weitesten Sinne.

Die Literatur gibt nur ungenügende Auskunft. Angaben über eine Abschwächung der antiphlogistischen Wirkung bei organischer Kalziumbindung (Starkenstein[13], Schikorr[14]) können für die Ionenhypothese verwertet werden. Die Überlegenheit dagegen, die das Selvadin gegenüber anderen Kalksalzen am Rumpel-Leede-Phänomen äußerte (Tönges[15]), ist mit ihr nicht vereinbar. Hier wie dort sind aber Verteilungsvorgänge in ihrer Auswirkung nicht zu übersehen. Die Grundversuche zur Lösung des therapeutischen Kalziumproblems können daher nur an einem möglichst einfachen Substrat ausgeführt werden.

Uns schien hierzu die Erythrozytenmembran sehr geeignet. An ihr mußte sich als Modellvorgang für die abdichtende, d. h. letzten Endes entzündungshemmende Wirkung der Kalziumverbindungen eine Schutzwirkung gegenüber hämolysierenden Eingriffen zur Darstellung bringen lassen. Höber[16] hat dies an Hand der Narkotikumhämolyse für Kalziumchlorid gezeigt.

Wir prüften die Wirkung der Kalziumpräparate auf die Narkotikum- (Urethan- und Alkohol-), Hypotonie-, Traubenzucker-, Harnstoff- und Saponinhämolyse. Dazu kamen Untersuchungen über die Farbstoffaufnahme durch Erythrozyten. Es wurde für die Narkotikum- und Saponinhämolyse ausschließlich Rinderblut, für die Traubenzuckerhämolyse nur Menschenblut und für die Hypotonie- und Harnstoffhämolyse Rinder- und Menschenblut verwendet.

Die untersuchten Kalziumverbindungen waren: Kalziumchlorid, -glukonat und -arabonat sowie Selvadin.

Wenn nicht anders vermerkt, waren die Lösungen so eingestellt, daß das Kalziumchlorid in blutisotonischer Lösung vorlag, die Konzentrationen der übrigen Kalziumsalze mit derjenigen des Kalziumchlorids hinsichtlich des Kalziumgehaltes übereinstimmten. Das Defizit an osmotischem Druck, das dabei entsteht, wurde durch NaCl ausgeglichen.

Blutisotonisch sind nach eigenen Gefrierpunktsmessungen ($\Delta = -0{,}56^0$); 0,95% NaCl; 1,29% $CaCl_2$; 8,24% Kalziumglukonat; 6,36% Kalziumarabonat*: 10,84% Selvadin.

Gleichen Kalziumgehalt (0,46% Kalzium) besitzen:
1,29% $CaCl_2$; 5% Kalziumglukonat; 5,2% Kalziumarabonat; 4,7% Selvadin.

Der Kalziumgehalt aller Präparate wurde analytisch ermittelt. Der Gehalt der Lösungen wurde nochmals nach Kramer-Tisdall überprüft.

In speziellen Versuchen wurde die Wirkung von Kalziumglukonat mit derjenigen von Natriumglukonat sowie mit Monosacchariden und Disacchariden verglichen. Die Lösungen waren dann, unter Korrektur der Blutisotonie durch NaCl, so eingestellt, daß sie in der Zahl der Hydroxylgruppen oder der Säureradikale übereinstimmten. In entsprechender Weise wurden Kalzium- und Natriumarabonat verglichen.

Blutisotonisch sind:
2,8% Natriumglukonat; 2,9% Natriumarabonat; 5,4% Glukose; 10% Saccharose; 10% Maltose.

Gleiche Anzahl OH-Gruppen besitzen:
2,7% Kalziumglukonat; 2,8% Natriumglukonat; 2,7% wasserfreies Kalziumarabonat; 2,8% Natriumarabonat; 2,31% Glukose. — 8,24% Kalzi mglukonat; 6,55% Maltose; 6,55% Saccharose.

In allen Lösungen wurde auch der p_H elektrometrisch bestimmt. Nennenswerte Abweichungen vom Neutralpunkt ergaben nur Natriumglukonat (2,9%) = p_H 7,7; Natriumarabonat (2,9%) = p_H 5,5; Selvadin (2,6%) = p_H 7,4; Kalziumchlorid (0,71%) = p_H 6,5.

Das Verhalten des Natriumarabonats entsprach nicht der Erwartung und deutete auf das Vorhandensein unabgesättigter Säuren. Durch Zusatz von NaOH bzw. HCl wurde die Abweichung des Natriumarabonats bzw. Natriumglukonats vom Neutralpunkt in einer Anzahl von Versuchen auskorrigiert.

Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf alle untersuchten hämolytischen Systeme sowie auf die Farbstoffaufnahme durch die Erythrozyten wurde ebenfalls in speziellen Versuchen ermittelt.

Das Ausmaß der Hämolysehemmung wurde bestimmt durch Vergleich mit Versuchsansätzen, denen statt der Kalziumlösungen die gleiche Menge physiologischer NaCl-Lösung beigegeben war.

1. Narkotikumhämolyse von Rinderblut.

Wir verwendeten hierzu hauptsächlich Urethan.

Für jedes zu prüfende Salz wurde eine Urethanverdünnungsreihe angesetzt (10; 9,5 9; 8,5; 8; 7,5 usw. Prozent in physiologischer NaCl). Zu je 1 ccm Urethanlösung kamen 0,2 ccm des zu prüfenden Salzes (in der Kontrollreihe NaCl-Lösung) und zuletzt 1 Tropfen gewaschener Rindererythrozyten. Die Hämolysegrade wurden zu verschiedenen Zeiten danach wiederholt abgelesen. Sie wurden nach einem bestimmten Schema abgestuft. Durch Vergleich mit der Kontrollreihe ergab sich der Grad der Hämolysehemmung durch die Verschiebung der von der beginnenden bis zur kompletten Hämolyse reichenden Zone in den Bereich höherer Urethankonzentrationen.

* Diese Angabe bezieht sich auf ein Präparat, das infolge eines Gehaltes an Kristallwasser einen Kalziumgehalt von nur 8,8% besaß. Dieser lag noch etwas niedriger als in dem von uns verwendeten Glukonat (9%).

Einfacher, aber ebenso brauchbar war ein zweites Vorgehen. Hierbei wurde nur 10% Urethan verwendet und der Zeitpunkt bis zum Beginn der Hämolyse ermittelt.

Das Ergebnis zahlreicher Versuche dieser Art war: Alle Kalziumsalze hemmten die Urethanhämolyse. Zwischen den einzelnen Salzen aber bestanden konstante und eindeutige Unterschiede. Es ergab sich folgende Reihenfolge der hemmenden Wirkung:

$$CaCl_2 < \text{Kalziumglukonat} = \text{Kalziumarabonat} < \text{Selvadin}$$

Es besteht also eine Überlegenheit der organischen Kalziumverbindungen über das Kalziumchlorid. Auffallend stark war die Wirksamkeit des Selvadins. Das Ergebnis wurde durch Ermittlung der wirksamen Grenzkonzentrationen bestätigt, wozu die Salze mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt wurden. Die Wirkung des Chlorids erlischt danach bei etwa 16—32facher, des Glukonats und Arabonats bei etwa 64facher und des Selvadins erst bei etwa 500facher Verdünnung.

Hierbei ergab sich noch ein wichtiger Unterschied zwischen dem Chlorid und den organischen Verbindungen. Bei fortlaufender Verdünnung nahm nämlich die Wirkung des Chlorids zunächst noch zu, um erst bei weiterer Verdünnung wieder abzunehmen. Es zeichnete sich also ein deutliches Optimum im Bereich mittlerer Kalziumkonzentrationen ab. Dagegen nahm die Wirkung der organischen Präparate mit zunehmender Verdünnung stetig ab. Das Schwächerwerden der hemmenden Chloridwirkung oberhalb der optimalen Konzentration trat noch stärker in Erscheinung, wenn die Konzentration über die isotonische Konzentration hinaus erhöht wurde. Im Falle der anderen Verbindungen wurde aber durch die gleiche Maßnahme die hemmende Wirkung noch sichtbarer. Dies hatte zur Folge, daß in allen oberhalb des Kalziumchloridoptimums liegenden Kalziumkonzentrationen der Unterschied zwischen dem Chlorid und den organischen Verbindungen, gemessen am Grad der Hämolysehemmung und der Hämolysezeit, besonders prägnant zum Ausdruck kam.

Es folgt daraus, daß bei der Kalziumchloridwirkung mit der Interferenz zweier Wirkungen, einer hämolysefördernden und einer hämolysehemmenden zu rechnen ist. Wir nehmen an, daß hier die spezielle gewebsabdichtende Wirkung des Kalziumchlorids überdeckt wird durch die von anderen Geweben her bekannte gewebsschädigende Wirkung. In Übereinstimmung mit den allgemeinen Erfahrungen wird sie durch Entionisierung aufgehoben. Sie ist also eine Folge der Ionenwirkung.

Mit der leicht sauren Natur des Kalziumchlorids hängt die schwache Ausprägung seiner hemmenden Wirkung nicht zusammen. Denn wir konnten feststellen, daß durch Ersatz des Kalziumchlorids durch kleine Salzsäuremengen die Urethanhämolyse gehemmt wird. Das Kalziumchlorid müßte also, wenn es auf seine Säurenatur ankäme, besonders stark hemmend wirken. Für das Verhalten des Kalziumchlorids ist vielmehr seine Elektrolytnatur entscheidend. Das geht auch daraus hervor, daß auch das neutrale Kochsalz in seiner Auswirkung auf die Hämolyse eine ähnliche Konzentrationsabhängigkeit aufwies wie das Kalziumchlorid. Setzt man nämlich in den nur NaCl enthaltenden Kontrollversuchen stufenweise den Kochsalzgehalt herab, so tritt auch hier eine Verdünnungszone

in Erscheinung, wo die Hämolyse schwächer ist als in höheren oder niedrigeren Kochsalzkonzentrationen.

Umgekehrt hängt die stark hemmende Wirkung des Selvadins nicht mit seiner leicht basischen Reaktion zusammen, da durch geringen Laugenzusatz die Urethanhämolyse zu begünstigen war.

Auch im Bereich der optimalen Konzentration ist das Kalziumchlorid den organischen Verbindungen mit gleichem absoluten Kalkgehalt (und niedrigerer Ionisation) unterlegen. Wir kommen daher zu dem wichtigen Ergebnis, daß *die Ionenabspaltung den hämolysehemmenden Effekt der organischen Verbindungen nicht allein erklärt, sondern daß der ungespaltene Komplex oder der Säurerest von entscheidender Bedeutung ist.* Der ungespaltene Komplex kann sich entweder durch direkten Kalziumaustausch mit Gewebsbestandteilen unter Umgehung der Ionenform betätigen oder auf andere Weise wirksam sein, ohne daß das Kalzium dabei eine Rolle spielt. Es wurde daher die Wirkung der Natriumsalze des Glukonats und Arabonats untersucht. Da wir unser Hauptaugenmerk auf die Hydroxylgruppen richteten, wurden auch verschiedene Zucker (Mono- und Disaccharide: Glukose, Galaktose, Maltose, Rohrzucker) unter Einstellung auf gleiche OH-Zahl geprüft. Letztere wurden nur mit Glukonat verglichen.

Alle diese kalziumfreien OH-Verbindungen hemmten die Hämolyse, und zwar untereinander etwa gleich stark. Die Bedeutung der OH-Gruppen ging unter anderem daraus hervor, daß die Disaccharide in isomolarer Konzentration den Monosacchariden überlegen waren*. Es wurde ferner die gleiche Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung wie bei den organischen kalziumhaltigen Verbindungen festgestellt. Es folgt daraus, daß zum Verständnis der Wirkungsweise des Kalziumglukonats und Kalziumarabonats die Säureradikale, und zwar wohl im wesentlichen deren Hydroxylgruppen zu berücksichtigen sind. Aber zur Erklärung der vollen Wirkung dieser beiden Kalziumsalze reicht dieser Faktor nicht aus; denn ihre Wirkung ging wesentlich über die der kalziumfreien OH-Verbindungen hinaus. Auch eine einfache Addition der Wirkung von abgespaltenen Kalziumionen und der Hydroxylgruppen scheint nicht vorzuliegen, zumal die Ionisation des Kalziums viel geringer ist als in dem Kalziumchlorid. *Wir müssen viel mehr annehmen, daß neben den Kalziumionen und den Hydroxylgruppen auch der ungespaltene Kalziumkomplex am Gesamteffekt unmittelbar beteiligt ist.*

Das Selvadin konnte nicht näher analysiert werden, da das kalziumfreie Natriumsalz selbst hämolytisch wirkte.

Es war nun zu prüfen, wieweit die Funktion der organischen Radikale in einer komplexen Bindung des Urethans bestehen könnte. Es wurden

* Über die antihämolytische Wirkung von Zuckerlösungen vgl. die Arbeiten von H. Rohde [Biochem. Z. **131**, 560 (1922)] und O. Laves [Biochem. Z. **161**, 416 (1925)]. Dortselbst weitere Literatur.

daher die gleichen Versuche mit Butyl- und Isopropylalkohol durchgeführt. Die Überlegenheit des Kalziumarabonats und -glukonats gegenüber Kalziumchlorid bestand auch hier. Dagegen war gegenüber Butylalkohol das Selvadin nicht stärker wirksam als das Glukonat und Arabonat, gegenüber Propylalkohol sogar schwächer. Es scheint daher, daß sich die starke Komplexaffinität der Brenzkatechinsulfosäure gegenüber Urethan doch maßgeblich bemerkbar macht.

2. Farbstoffversuche mit Rinderblut.

Wir schließen sie hier an, weil das Ergebnis den Narkotikumversuchen etwas ähnelte. Nach zahlreichen Vorversuchen fanden wir das Brillantkresylblau am besten geeignet.

Versuchsansatz: 3 ccm NaCl-Lösung + 0,8 ccm Kalziumsalzlösung bzw. NaCl-Lösung + 8 Tropfen Erythrozyten. Nach 10 Min. Zusatz von 0,7 ccm 0,01%iger Brillantkresylblaulösung in physiologischer NaCl. Nach 5 Min. Ausschleudern der Erythrozyten und stufenphotometrische Messung des Farbstoffgehaltes. Kontrollen mit allen Kalziumsalzen ohne Erythrozytenzusatz, um Einflüsse der Kalksalze auf den Farbstoff zu erfassen.

Das Ergebnis war:

$CaCl_2$	keine Hemmung
Kalziumglukonat	eindeutige Hemmung
Kalziumarabonat	eindeutige Hemmung
Selvadin	stärkste Hemmung

Das Ergebnis ähnelt den Narkotikumversuchen insofern, als die organischen Ca-Verbindungen an hemmender Wirkung das Kalziumchlorid wieder eindeutig übertreffen und das Selvadin wieder an der Spitze steht. Das Kalziumchlorid ließ hier sogar eine sichere Wirkung vermissen. Dieses Versagen des Kalziumchlorids kann wiederum nicht mit seiner sauren Natur in Verbindung gebracht werden; denn die Aufnahme des Brillantkresylblaus als eines basischen Farbstoffes wird durch p_H-Verschiebung nach der sauren Seite gehemmt. *Es ist also das Kalzium im $CaCl_2$, welches sich zur Hemmung der Farbstoffaufnahme als unfähig erwiesen hat.*

Aber auch bezüglich der organischen Kalziumverbindungen fanden sich andere Gesetzmäßigkeiten als in den Narkotikumversuchen. Wurden die Kalziumsalze durch Traubenzucker ersetzt, so trat keine Hemmung auf, was die Beteiligung der Hydroxylgruppen an dem hemmenden Effekt der organischen Kalziumsalze ausschließt. Dagegen überraschte uns die Feststellung, daß das Natriumarabonat und Natriumglukonat genau so wirksam waren wie die Kalziumsalze. *Die Wirkung des Kalziumglukonats und des Kalziumarabonats geht daher wohl ausschließlich über das Anion und nicht über das Kalzium.*

Das Selvadin schließlich bewirkte nach längerer Zeit in den Kontrollversuchen ohne Erythrozyten eine Herabsetzung der Farbintensität der

Farbstofflösung, die auf eine Reaktion zwischen Selvadin und Farbstoff hindeutet. Zwar ist dieser Effekt auf die Farbtiefe entgegengesetzt dem, wie er bei Gegenwart der Erythrozyten beobachtet wird. Es findet also wieder eine Hemmung der Farbstoffaufnahme durch das Selvadin statt. Aber es ist doch naheliegend, diese Hemmung der Farbstoffaufnahme mit der beobachteten Reaktion zwischen Selvadin und Farbstoff in Beziehung zu bringen. Es scheint also nicht eine Zellabdichtung, sondern eine Bindung des Farbstoffes durch Betätigung des Komplexpartners im Selvadin vorzuliegen.

Die Farbstoffversuche haben also eindeutige Wirkungen des Kalziums in allen untersuchten Präparaten vermissen lassen. Um so bemerkenswerter ist die festgestellte starke Wirksamkeit der organischen Verbindungen, denn sie zeigt, *wie sehr bei der pharmakologischen Wirkung von organischen Kalziumsalzen auf die Reaktionsfähigkeit der organischen Radikale bzw. Komplexpartner geachtet werden muß.*

3. Hypotoniehämolyse von Rinderblut.

Zu je 2 ccm 0,25, 0,3, 0,35, 0,4 usw. prozentiger NaCl-Lösung wurden je 0,4 ccm der verschiedenen Kalziumlösungen bzw. physiologische NaCl-Lösung und 2 Tropfen Erythrozyten zugesetzt.

Ergebnis:

Förderung der Hämolyse durch $CaCl_2$. (vgl. hierzu Mond[17]). Hemmung der Hämolyse durch Kalziumarabonat < Kalziumglukonat = oder < Selvadin.

An diesem Ergebnis fällt uns wieder *die Überlegenheit der organischen Kalziumpräparate als Hemmungsstoffe für die Hämolyse* auf. Hier kommt sie durch ein diametrales Verhalten des Kalziumchlorids, welches sogar die Hämolyse fördert, besonders prägnant zum Ausdruck.

Wir müssen zwar damit rechnen, daß die saure Natur des Kalziumchlorids der Ausprägung einer Hemmungswirkung hinderlich ist; denn durch saure Reaktion wird die Hypotoniehämolyse gefördert, wovon wir uns auch selbst überzeugen konnten. Wir haben aber neben einem analysenreichen Produkt auch ein mit Kalziumoxyd verunreinigtes $CaCl_2$ zur Verfügung gehabt, welches nur unwesentlich sauer reagierte (p_H der 1,27%igen Lösung = 6,8). Auch dieses Präparat förderte die Hämolyse, so daß wir sicher sind, daß es sich bei diesem Effekt wieder in erster Linie um die bekannte zellschädigende Wirkung der freien Kalziumionen handelt.

Die Hemmungswirkung der organischen Kalziumpräparate ist daher wohl in erster Linie auf die besseren Bindungsverhältnisse des Kalziums, d. h. auf das Kalzium im ungespaltenen Komplex zurückzuführen. Durch Heranziehung von Vergleichsversuchen mit Natriumglukonat, Natrium arabonat und Traubenzucker ließ sich keine sichere Hemmungswirkung der kalziumfreien Säureradikale oder Hydroxylgruppen im besonderen nachweisen. Auch die Überlegenheit des Kalziumglukonats über das Kalziumarabonat findet die zwangsloseste Erklärung durch Annahme einer Betätigung des ungespaltenen Kalziumkomplexes; denn nach

unseren Gefrierpunktsmessungen muß für das Kalziumglukonat eine geringere Zerfallstendenz in wäßriger Lösung angenommen werden als für das Arabonat. Diese Auffassung wird noch gestützt durch die später zu besprechenden Versuche mit Menschenblut, wo sich zwischen Kalziumglukonat und Kalziumarabonat der gleiche Unterschied fand.

Beim Selvadin allerdings konnte die starke Hemmungswirkung zum Teil durch die alkalische Reaktion bedingt sein, wenn auch nicht ausschließlich. Bei der noch zu besprechenden Traubenzuckerhämolyse des Menschenblutes, die durch alkalische Reaktion gefördert wird, obwohl sie ihrem Wesen nach auch eine Hypotoniehämolyse ist, fanden wir daher auch das Selvadin von deutlich geringerer Hemmungswirkung. Die Hypotonieversuche lieferten also wieder ein eigenes Ergebnis.

4. Harnstoffhämolyse von Rinderblut.

In ihrem Wesen ist auch die Hämolyse von Erythrozyten in Harnstofflösungen ein Hypotonieeffekt, da der Harnstoff in die Erythrozyten eindringt. Die Hämolyse läßt sich durch Zusatz verschiedener NaCl-Mengen steuern.

Zu 2 ccm variierter Kochsalzharnstofflösungen (hergestellt durch Mischen von 1,8%igem Harnstoff und 0,95%iger NaCl in wechselnden Proportionen) wurden 0,5 ccm Kalziumsalzlösungen bzw. zur Kontrolle NaCl und 2 Tropfen Rindererythrozyten zugesetzt.

Das Ergebnis war das gleiche wie in den einfachen Hypotonieversuchen. Es ist daher anzunehmen, daß die organischen Kalziumsalze nicht das Eindringen von Harnstoff in die Erythrozyten beeinflussen, sondern die Erythrozytenmembran lediglich gegen den der Harnstoffaufnahme folgenden Hypotonieeffekt schützen. Eine Sonderstellung nahm nur die Glukose ein, die im Gegensatz zu den einfachen Hypotonieversuchen einen schwachen hemmenden Effekt hatte (wahrscheinlich durch Hemmung der Harnstoffaufnahme).

5. Traubenzuckerhämolyse von Menschenblut.

Bringt man menschliche Erythrozyten in Traubenzuckerlösung, so tritt auf ähnliche Weise wie mit Harnstoff Hämolyse ein. Der Versuch gelingt aber nur mit Menschenblut, weil der Traubenzucker nur in dieses eintritt (Ege[18], Bönninger[19], Hagedorn[20], Mond[21], Rona und Michaelis[22], Rona und Doeblin[23], Masing[24], Höber[25], Fleischmann und Kaunitz[26]).

Versuchsansatz: Da der Effekt nur langsam einsetzt, benutzten wir zur Beschleunigung der Hämolyse eine bereits hypotonische Glukoselösung (2,5%). Zu 2 ccm dieser Lösung kamen 3 Tropfen Kalziumsalzlösung (bzw. NaCl-Lösung) und 6 Tropfen gewaschener menschlicher Erythrozyten.

Das Resultat wich sowohl von der Hypotonie- und Harnstoffhämolyse mit Rinderblut als auch von den davor erwähnten Versuchen ab. Gegenüber den Hypotonie- und Harnstoffversuchen mit Rinderblut war das Auftreten einer hemmenden Kalziumchloridwirkung auffallend. In Übereinstimmung mit den bisherigen Ergebnissen steht wieder die günstige Wirkung der organischen über die anorganische Verbindung. So ergab sich folgende Reihenfolge der hämolysehemmenden Wirkung:

$$\text{Kalziumchlorid} < \text{Selvadin} = \text{oder} < \text{Kalziumarabonat} = \text{oder} < \text{Kalziumglukonat.}$$

Die Traubenzuckerhämolyse von Menschenblut hat sich als ein besonders geeignetes Verfahren zur Messung der Kalziumwirkung erwiesen. Dies geht aus den kleinen Kalziummengen hervor, die zur Erzielung starker Effekte ausreichen (vgl. Methodik). Die Überlegenheit der organischen Kalziumverbindungen, insbesondere des Glukonats und Arabonats war sehr groß.

Aus den Versuchen mit Kalziumchlorid geht wieder hervor, *daß die Ionenform nicht die optimale Zustandsform des Kalziums* ist. Allerdings ist bemerkenswert, daß bei der Traubenzuckerhämolyse doch eine sichere Hemmungswirkung des Kalziumchlorids vorhanden ist, die bei der Hypotonie- und Harnstoffhämolyse des Rinderblutes fehlt. Man könnte nun im Hinblick auf die saure Natur des Kalziumchlorids daran denken, daß dies damit zusammenhänge, daß durch saure Reaktion die Traubenzuckerhämolyse anders als die Hypotoniehämolyse des Rinderblutes, nämlich hemmend beeinflußt werde. Dies ist zwar tatsächlich in schwachem Maße der Fall, doch reicht dieser Effekt zur Erklärung der Wirkung des Kalziumchlorids nicht aus.

An der Wirkung des Kalziumglukonats und -arabonats sind die Anionen beteiligt, wie Versuche mit Natriumglukonat und -arabonat ergaben, jedoch nur zu einem sehr kleinen Teil. Auch die Annahme einer additiven Wirkung von Säureanionen und Kalziumionen reicht nicht zur Erklärung des Gesamteffektes aus. Wir müssen daher auch hier wieder den ungespaltenen Komplex ins Auge fassen. Dahin deutet auch folgende Beobachtung: In den Versuchen mit kalziumfreien Salzen fanden wir das Natriumglukonat stets schwächer wirksam als das Natriumarabonat, und zwar sowohl in Konzentrationen, die isomolar waren, als auch in solchen, die hinsichtlich der Zahl der OH-Gruppen übereinstimmten. Die Kalziumsalze aber verhielten sich eher umgekehrt. Ginge die Wirkung des Kalziumglukonats nur über die Kalziumionen und die freien Anionen, so müßte beim Kalziumglukonat zum Ausgleich der schwächeren Anionenwirkung ein stärkerer Zerfall in Ionen als beim Kalziumarabonat angenommen werden. Da aber, wie schon erwähnt,

das Gegenteil der Fall ist, kann *das Kalziumglukonat seine starke Wirkung nur aus einer wesentlichen Beteiligung des ungespaltenen Komplexanteils beziehen.*

Das Selvadin steht vielleicht deshalb trotz besonders stark komplexer Bindung des Kalziums nicht an der Spitze, weil seine Alkalität der vollen Ausprägung seiner hämolysehemmenden Wirkung hinderlich ist.

Um noch genaueres über den Mechanismus der Hemmung der Traubenzuckerhämolyse zu erfahren, bestimmten wir auch in besonderen Versuchen die Beeinflussung der Traubenzuckeraufnahme in die Erythrozyten durch die verschiedenen Kalziumsalze, ohne daß aber eine hemmende Wirkung festzustellen war. Wir müssen also folgern, daß die Kalziumsalze die auf die Traubenzuckeraufnahme folgende osmotische Hämolyse bremsen. Es war aber bei dieser Sachlage festzustellen, warum hier die Kalziumsalze andere Gesetzmäßigkeiten zeigten als bei der einfachen Hypotonie- oder Harnstoffhämolyse von Rinderblut. Das konnte an der Tierart liegen. Daher wurden noch durchgeführt:

6. Hypotonie- und Harnstoffhämolyse von Menschenblut.

Methodik: Entsprechend den Rinderblutversuchen.

Das Ergebnis lautete: Hemmung durch alle Kalziumsalze in folgender Reihe: Kalziumchlorid = oder < Kalziumarabonat < Selvadin < Kalziumglukonat.

Diese Reihenfolge entspricht der bei der Traubenzuckerhämolyse ermittelten vollständig, wenn wir vom Selvadin absehen.

Das Verhalten des Selvadins wird aber verständlich, wenn man wieder seine Basizität berücksichtigt. Durch alkalische Reaktion wird nämlich die einfache Hypotoniehämolyse gehemmt, genau wie beim Rinderblut. Die Traubenzuckerhämolyse dagegen wird durch Alkalität gefördert, vielleicht weil hierbei die Traubenzuckeraufnahme erhöht wird. Darum tritt bei der Hypotonie- und Harnstoffhämolyse des Menschenblutes die hemmende Wirkung des Selvadins stärker hervor als bei der Traubenzuckerhämolyse.

Wir müssen also das Selvadin aus der Betrachtung weglassen. Dann folgt aber aus dem übereinstimmenden Verhalten der übrigen Kalziumsalze bei der Harnstoff- und Hypotoniehämolyse und der Traubenzuckerhämolyse des Menschenblutes eindeutig, daß ihre Wirkung bei der Traubenzuckerhämolyse auf einer Hemmung des durch die Traubenzuckeraufnahme bedingten Hypotonieeffektes beruht.

7. Saponinhämolyse von Rinderblut.

Methodik: Ausgehend von einer Saponinstammlösung von 0,1 g in 300 ccm physiologischer NaCl-Lösung wurden mit physiologischer NaCl Verdünnungsreihen angesetzt. Zu je 1 ccm kamen 0,2 ccm Kalziumsalz — bzw. NaCl-Lösung und 2 Tropfen Rindererythrozyten.

Handovsky[27] hatte schon eine fördernde Wirkung des Kalziumchlorids auf die Saponinhämolyse beschrieben. Wir fanden die gleiche hämolysefördernde Wirkung auch bei allen organischen Kalziumverbindungen. Ein wesentlicher Unterschied untereinander und gegenüber dem Kalziumchlorid bestand nicht. Eine schwache fördernde Wirkung hatten auch Natriumarabonat und Natriumglukonat. Hemmend war dagegen, und zwar in starkem Maße, die Glukose (ebenso Handovsky mit Rohrzucker).

Anhangweise sei erwähnt, daß wir eine Aufnahme von Kalzium in die Erythrozyten in analytisch nachweisbaren Mengen aus keiner der geprüften organischen Kalziumverbindungen und dem Chlorid feststellen konnten.

Besprechung der Ergebnisse.

Die aufgezeigten Befunde geben ein recht mannigfaltiges Bild über die Reaktionsmöglichkeiten der einzelnen Kalziumverbindungen. Auf der einen Seite steht die *Narkotikumhämolyse von Rinderblut und die Hypotonie-, Harnstoff- und Traubenzuckerhämolyse von Menschenblut*, auf die *alle* Kalziumsalze *hemmend* wirkten. Auf der anderen Seite steht die *Saponinhämolyse von Rinderblut*, wo sie *alle* die Hämolyse *förderten*. Dazwischen steht die *Hypotonie- und Harnstoffhämolyse* von Rinderblut mit der *fördernden Kalziumchloridwirkung und der hemmenden Wirkung der organischen Verbindungen*. Sehen wir von der Saponinhämolyse ab, so kristallisiert sich als das vielleicht wichtigste Ergebnis dieser Arbeit die Feststellung von der *überlegenen zellschützenden Wirkung der organischen Kalziumverbindungen* heraus. Unter ihnen trat bei bestimmten Testen das Selvadin, bei anderen das Glukonat besonders hervor.

Dieser positiven Eigenschaft der organischen Kalkverbindungen tritt schon als grundsätzlich länger bekannte Tatsache das Fehlen gewebsschädigender (in unserem Falle hämolysefördernder) Eigenschaften zutage (wieder mit der Ausnahme der Saponinhämolyse). In den Urethanversuchen trat die schädliche Wirkung des Chlorids nur in den eigentümlichen Dosiswirkungsbeziehungen in Erscheinung. Es besteht hierbei eine interessante Parallele zu den Froschherzversuchen von Gehlen[28] mit dem Selvadin. Er konnte zeigen, daß dem Chlorid bei Erhöhung der Dosis toxische Wirkungen zukommen, die das Selvadin bei Dosiserhöhung vermissen ließ.

Durch unsere Versuche erfährt die Annahme eine starke Stütze, daß *an den therapeutischen Effekten neben der sicher in manchen Fällen nachweisbaren Wirksamkeit der ionalen Form* (Urethanhämolyse, Traubenzucker-, Hypotonie- und Harnstoffhämolyse des Menschenblutes) *auch andere Reaktionsmöglichkeiten in Betracht zu ziehen sind*. Hierbei hat man nach unseren Erfahrungen wieder *zu unterscheiden zwischen Wirkungen des „komplexgebundenen" Kalziums* (z. B. bei der Traubenzuckerhämolyse) *und Wirkungen des organischen Restes*. Die letzteren können

durch die Anhäufung der hydrophilen Gruppen (z. B. Narkotikumhämolyse) oder auf andere Weise (Wirkungen der freien Säureanionen: Farbstoffversuche) zustande kommen. Sie können schließlich auf direkter Bindung eines in die Blutkörperchen eindringenden Stoffes an den Komplexpartner beruhen (Selvadin gegenüber Urethan und Farbstoffen). So erklärt sich der Vorzug der organischen Verbindungen teils durch die günstige Bindungsform des Kalziums, teils durch die unterstützende Wirkung der nicht an das Kalzium gebundenen Reaktionseigentümlichkeiten.

Selbstverständlich steht es noch aus, die Brücke von diesen Modellversuchen zu den eigentlichen therapeutischen Wirkungen zu schlagen. Dazu fehlen noch die experimentellen und klinischen Unterlagen. Immerhin drängt sich bereits der Vergleich zwischen der von uns in einigen Versuchen beobachteten starken Wirkung des Selvadins und den klinischen Versuchen von Tönges mit der gleichen Substanz auf. Auf jeden Fall glauben wir, daß sich auch bei der weiteren Analyse die Abkehr von der einseitigen Ionenhypothese und die Ausrichtung des Blickes auf die ganzen Moleküle im Sinne Wolfgang Heubners bewähren wird.

Zusammenfassung.

1. Es wurde der Einfluß von Kalziumverbindungen auf die Durchlässigkeit der Erythrozytenmembran geprüft. Als Test diente die Hämolyse durch Narkotika, Hypotonie (einfache Hypotonie, Hypotonie durch Harnstoff- oder Traubenzuckeraufnahme) und Saponin; ferner die Aufnahme von Farbstoffen in die Erythrozyten. Die verwendeten Kalziumsalze waren: Kalziumchlorid, Kalziumglukonat, Kalziumarabonat und Selvadin.

2. Außer bei der Saponinhämolyse hatten die organischen Kalziumverbindungen stets einen stärkeren Hemmungseffekt auf die hämolytischen Vorgänge bzw. die Farbstoffaufnahme als Kalziumchlorid.

3. Die genauere Analyse ergab, daß bei der Wirkung der organischen Kalziumverbindungen neben den Kalziumionen auch das Kalzium im ungespaltenen „Komplex" und schließlich auch die Funktion der organischen Radikale (Säureanionen, OH-Gruppen) berücksichtigt werden muß.

Literatur.

[1] Heubner, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 266 (1938). — [2] Heubner, W.: Biochem. Z. **234**, 221 (1931). — Klin. Wschr. **1938**, 557. — [3] Klinke, K.: Klin. Wschr. **1927**, 791. — [4] Pohle, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 109 (1935). — [5] McLean, F. C. and A. B. Hastings: J. biol. Chem. (Am.) **107**,

337 (1934); **108**, 285 (1935). — [6] Schmidt, H.: Medizin und Chemie, Bd. 2. 1934. — [7] Rothlin, E.: Z. exper. Med. **70**, 634 (1930). — [8] Weese, H.: Dtsch. med. Wschr. **1932**, 408. — [9] Weilguny, F.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1932**, 71. — [10] Behrens, B. u. J. Wajzer: Biochem. Z. **264**, 120 (1933). — [11] Kluge, L.: Biochem. Z. **242**, 228 (1931). — [12] Hermann, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **154**, 143 (1930). — [13] Starkenstein, E.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1930**, 22. — [14] Schikorr, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 191 (1932). — [15] Tönges: Fschr. Ther. **1933**, 437. — [16] Höber, R.: Pflügers Arch. **166**, 509 (1916). — [17] Mond, R.: Pflügers Arch. **217**, 308 (1927). — [18] Ege, R.: Biochem. Z. **107**, 246 (1921); **111**, 189 (1920); **114**, 88 (1921). — [19] Bönninger, M.: Biochem. Z. **103**, 306 (1920). — [20] Hagedorn, A. C.: Biochem. Z. **107**, 248 (1921). — [21] Mond, R.: Pflügers Arch. **224**, 161 (1930). — [22] Rona, P. u. L. Michaelis: Biochem. Z. **16**. 60 (1908). — [23] Rona, P. u. A. Doeblin: Biochem. Z. **31**, 215 (1911). — [24] Masing: Pflügers Arch. **149**, 227 (1912). — [25] Höbert, R.: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, S. 461. Leipzig 1926. — [26] Fleischmann, W. u. H. Kaunitz: Pflügers Arch. **233**, 148 (1934). — [27] Handovsky, H.: Pflügers Arch. **195**, 253 (1922). — [28] Gehlen, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 188 (1933).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. F. Eichholtz).

Die Wirkung einiger aliphatischer Amine am Froschdurchströmungspräparat*.

Von

F. Hauschild und H. Landbeck.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Zur pharmakologischen Prüfung gefäßwirksamer Substanzen findet seit einem Vorschlage Straubs unter anderem das von A. Läwen [1] und P. Trendelenburg [2] ausgearbeitete Verfahren und allgemein nach letzteren Autoren benannte Froschdurchströmungspräparat Verwendung. Schon Oliver und Schäfer [3] untersuchten die Gefäßwirkung von Nebennierenextrakten in ähnlicher Weise am Frosch. Durch Enthirnung und Zerstörung des Rückenmarkes befinden sich bekanntlich die Gefäße bei diesem Verfahren in einem Zustand der Erschlaffung und damit ist dieses Präparat zunächst nur zur Prüfung vasokonstriktorisch wirksamer Substanzen geeignet. Es lassen sich unter Berücksichtigung und Einhaltung konstanter und zweckentsprechender Versuchsbedingungen quantitativ vergleichbare Befunde recht beachtlicher Exaktheit erzielen. Doch müssen gewisse Fehlerquellen, so zum Beispiel die Abhängigkeit der Zerstörung zu prüfender Substanzen von der Größe des durchströmten Gefäßgebietes, welche durch das Pharmakon selbst variiert, die allmähliche Verarmung etwa der mit dem Pharmakon reagierenden Gewebszellen an normalerweise vorhandenen und nachgelieferten Fermenten und Stoffwechselprodukten usw. in Kauf genommen werden bzw. Berücksichtigung bei der Beurteilung finden, wie dies ja auch seinerzeit Läwen bezüglich der Zerstörung des Adrenalins während der Durchströmung bereits zeigen konnte und worauf wahrscheinlich auch die gesteigerte Adrenalinempfindlichkeit des „gealterten" Präparates zurückzuführen sein dürfte.

Es ist somit im Sinne von Cannon und Lymann [4], welche seinerzeit schon postulierten: „The contracted muscle is prepared for relaxation, the relaxed muscle is prepared for contraction" verständlich, wenn am genannten Versuchsobjekt gefäßerweiternde Pharmaka, etwa solche vom Typus des Cholins, bei der Durchströmung oft keine Effekte aufweisen bzw. erst in Konzentrationen wirksam werden, welche der pharmakologischen Aktivität derartiger Körper in vivo nicht entsprechen oder gar entgegengesetzt sind, wie dies S. Samelson [5] im Jahre 1911 für die Wirkungen des Cholins bzw. Azetylcholins unter anderen zeigte. In diesem Sinne prüften dann J. Bauer und A. Fröhlich [6] gefäßerweiternde Substanzen am Froschgefäßpräparat, welches mittels Adrenalin-Ringer-Dauerdurchströmung in einen gewissen Kontrakturzustand versetzt wurde. Diese Art der „Tonisierung" wendete dann auch F. Hildebrandt [7] zur Prüfung der spasmolytischen Atropinwirkung an. Es ließ sich in diesen Untersuchungen am

* Herrn Professor Dr. W. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

„tonisierten" Gefäßpräparat des Frosches dann auch stets die erwartete gefäßerweiternde Wirkung derartiger Pharmaka darstellen. So erzeugt z. B. Cholin bekanntlich am nur mit normaler Ringerlösung durchströmten Präparat in Konzentrationen von etwa 1:1000 eine leichte Konstriktion, während nach Tonisierung mittels Adrenalin eine Gefäßerweiterung gefunden wird. Ähnliche Befunde, welche auf die Bedeutung der Ausgangslage der Erfolgsorgane hinweisen, ergeben sich in Analogie etwa bei der Durchströmung des isolierten Kaninchenohres oder bei anderen derartigen Versuchsanordnungen.

Nachdem erstmalig Csepai und Dolechall[8] im klinischen Versuch die auffallend stärkere Adrenalinwirkung nach Vorbehandlung mit Ephedrin feststellen konnten und Schaumann[9] im Versuch am Froschgefäßpräparat diese Befunde tierexperimentell bestätigte, wurde der Begriff der „Sensibilisierung" der Gefäße für Adrenalin durch das Ephedrin, und dann weiterhin auch durch ephedrinähnliche Körper, geprägt. Diese Sensibilisierung der Sympathikusenden bzw. der „myoneural-junction" ließ sich auch bei anderen Versuchsanordnungen und am ganzen Tier eindeutig feststellen, so im Blutdruckversuch an der Katze mittels Adrenalin- bzw. Ephedrindauerinfusion an sich unwirksamer Konzentrationen. Durch die bekannten Befunde von Richter, Schlossmann und Mitarbeitern[10] fand diese Sensibilisierung der Adrenalinwirkung durch Ephedrin usw. eine anscheinend überzeugende Deutung, ergaben sich doch zwischen fermenthemmender Fähigkeit und Ausmaß der Sensibilisierung von Ephedrin und ephedrinähnlichen Substanzen gewisse Analogien, um im Sinne Gaddums die Wirkungen der sympathomimetischen Amine letzten Endes als Adrenalinwirkungen zu deuten. Jedoch ist auch diese Auffassung, so von D. Richter[5] selbst nicht unwidersprochen geblieben und bezüglich der begründeten Bedenken gegen eine derartige Deutung sei hier nur auf die Arbeiten von Orzechowski und Mitarbeitern[11] verwiesen. Recht sicher erscheint es jedoch — auch im hier interessierenden Falle des Durchströmungspräparates —, daß diese so erheblich nach Adrenalindurchströmung verstärkten Effekte des Ephedrins ein spezifischer Vorgang sind, der sich nicht allein durch die veränderte Ausgangslage, also etwa die Tonisierung ganz allgemein, deuten läßt, sondern eben spezifisch an die Adrenalinkonfiguration und deren Eigenheiten gebunden sein dürfte.

An dieser Stelle soll — nur in Kürze — über einige Befunde berichtet werden, die bei der vergleichenden Prüfung einer Reihe von *aliphatischen* Aminen am Durchströmungspräparat des Frosches erhoben wurden. Hierbei war zunächst nur bezweckt, gewisse Gesetzmäßigkeiten bezüglich chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung dieser Amine zu überprüfen, welche die Fortsetzung seinerzeit nicht abgeschlossener Versuche des einen von uns (Hauschild) in gewisser Richtung darstellen und über welche damals bereits berichtet wurde[12].

Es sei bezüglich Literatur und allgemeine Fragestellung auf diese Arbeit verwiesen und nur kurz erwähnt, daß eingehendere pharmakologische Untersuchungen über die Gruppe der einfachsten aliphatischen Mono- und Diamine vom Typus des Methylamins, Äthylamins, Äthylendiamins usw. sowie analoger hydroxylhaltiger Amine in der Literatur nur wenig zu finden sind (Hildebrandt, Formaneck, Cloetta und Wünsche, Barger und Dale, Abelous, Degree u. a.). Vor allem über Wirkungsart und Angriffspunkte dieser Amine, die im physiologischen und pharmakologischen Geschehen auf Grund ihres Vorkommens etwa in gebundener Form (Seitenketten) oder als Abbauprodukte von Aminosäuren vielleicht doch irgendwelche Rolle spielen könnten, besitzen wir nur recht geringe Kenntnisse. Weiterhin sei noch erwähnt, daß einige dieser Amine infolge ihrer Verwendung als Lösungsvermittler für das Theophyllin (Äthanolamin, Diäthanolamin, Äthylendiamin u. a.) in Form von viel gebrauchten Fertigfabrikaten

(Euphyllin, Deriphyllin usw.) eine zum Teil recht umfangreiche therapeutische Anwendung finden und nicht ohne Einfluß auf die therapeutische Wirkung und Wertschätzung derartiger Handelspräparate sein dürften.

Im allgemeinen jedoch gelten diese Amine als pharmakologisch wenig aktiv und dementsprechend als uninteressant, was ja auch im Vergleich zu der so erheblichen Wirksamkeit der entsprechenden aromatischen Amine durchaus verständlich ist. Lediglich das für den Physiologen interessante Äthanolamin (Colamin) ist eingehender untersucht, ferner findet neuerdings die diuretische Wirksamkeit einiger dieser Amine Beachtung (Chabriel, Sallet u. a.). Es sei in diesem Zusammenhang noch auf Befunde von M. S. Schwarz[13] hingewiesen, welcher ganz erhebliche Wirkungen des Äthylamins auf die Gefäße des isolierten Hundekiefers feststellen konnte und erweiternde Effekte des Äthylamins dosismäßig bis fast zu der Größenordnung der Adrenalinwirksamkeit hin feststellte. Auch Sobu fand noch 0,02 mg des Äthanolamins am Kaninchenohrgefäßpräparat im Sinne einer Gefäßerweiterung wirksam. Im übrigen sei noch vermerkt, daß uns die neuere Literatur (ab 1939/40), bis auf wenige Ausnahmen, infolge der Zeitverhältnisse nicht verfügbar war und somit unberücksichtigt bleiben mußte.

Wir prüften die Gefäßwirksamkeit einer Reihe aliphatischer Amine am mit Ringerlösung durchströmten Froschgefäßpräparat in der üblichen Anordnung und Methodik, außerdem aber auch am durch Adrenalin-Ringer tonisierten Präparat in Anlehnung an das Vorgehen von Schaumann[9]. Es kamen unter anderem die folgenden Amine in Form von Lösungen ihrer salzsauren Salze zur Untersuchung *:

1. *Ohne Hydroxylgruppe:* Äthylamin, Diäthylamin, Triäthylamin: Äthylendiamin.

2. *Mit Hydroxylgruppe:* Äthanolamin (Colamin), Diäthanolamin, Triäthanolamin, Diäthylaminoäthanol, N-Monooxyäthyläthylendiamin, sym. N, N′-Dioxyäthyläthylendiamin.

Der Zweck der Untersuchungen war zunächst, eventuelle Unterschiede zwischen primären, sekundären und tertiären Aminen einerseits, der Einführung von Hydroxyl- bzw. Oxyäthylgruppen andererseits, festzustellen, wie dies bereits seinerzeit begonnen war.

Auf Grund der damaligen Befunde, die nur zum Teil berichtet wurden, war in Analogie zur Cholingruppe am nicht tonisierten Durchströmungspräparat erst bei sehr hoher Dosierung eine Wirksamkeit im Sinne einer leichten Vasokonstriktion zu erwarten. Naturgemäß würde bei einem derartigen Vorgehen mit massiven Dosen eine vergleichende Auswertung erschwert sein, und es war zu erwarten, am spastisch verengten Präparat gefäßerweiternde Effekte auch schon bei niederer Dosierung unter erleichterten Versuchsbedingungen zu erhalten. Insbesondere bestand diese Vermutung zu Recht, als der eine von uns dies bereits für einige aliphatische Amine am durch Tonephin spastisch verengten Kaninchenohrgefäßpräparat feststellen konnte, was in der erwähnten Arbeit[11] bereits für

* Die Substanzen wurden zum Teil selbst hergestellt und von den reinen Basen zunächst HCl-neutrale, konzentrierte Stammlösungen in destilliertem Wasser angefertigt. Die Lösungen wurden nur frisch verwendet und besonders die Lösungen der Diamine nicht zu konzentriert gehalten.

das Diäthylaminoäthanol mitgeteilt wurde (s. S. 577/78). Aus der dort dargestellten Abb. 9 ist zu ersehen, wie *3 mg Diäthylaminoäthanol am normal durchströmten Ohrpräparat eine Konstriktion bedingen, die gleiche Dosis jedoch am durch Tonephin verengtem Präparat eine kräftige Gefäßdilatation hervorruft*, wie sie ja auch auf Grund der ganz allgemein diesen Aminen zukommenden Hauptwirkungen — Blutdrucksenkung, Spasmolyse usw. — zu erwarten war. Auch die anderen seinerzeit geprüften Amine ergaben am durch Tonephin verengerten Präparat analoge dilatatorische Effekte mehr oder weniger starken Ausmaßes, und zwar lag die wirksame Dosis, welche gerade zu einem eindeutigen Effekt führte, etwa um das 3—5fache niedriger als diejenige Dosis, welche am nicht mit Tonephin durchströmten Präparat zu einer Vasokonstriktion führte.

In unseren jetzigen Versuchen am Froschgefäßpräparat erzeugten wir nun in Anlehnung an das Vorgehen Schaumanns eine leichte Tonisierung dadurch, daß wir unter Beachtung aller erforderlichen Kautelen der Ringerlösung in geeigneter Menge Adrenalin zusetzten und nach dem Eintritt einer ausreichenden Konstanz der auf etwa das 3—4fache verminderten Tropfenzahl die zu prüfenden Lösungen in üblicher Weise in den Gummischlauch oberhalb des Kanülenansatzes injizierten. *Wir erwarteten nun, auf Grund der erwähnten vergangenen Erfahrungen am durch Tonephin spastisch verengten Präparat, gefäßerweiternde Wirkungen, was jedoch nicht der Fall war. Im Gegenteil wurde bei den zunächst verwendeten relativ hohen Dosen, aber auch bei den dann gebrauchten niederen Dosen, stets eine starke bis stärkste Vasokonstriktion festgestellt*, die bei den höheren Dosierungen zu maximalster Gefäß-

Tabelle 1.

Dosisangabe bezogen auf freie Base. — Die Zahlen geben die durchschnittliche Zeit in Sekunden an, welche zum Ausfluß von 10 Tropfen benötigt wird. Adrenalinkonzentration: 1 : 10000000 in Ringer. Injektionsflüssigkeit stets 0,5 ccm. Kontrollinjektionen mit Ringer bzw. Adrenalinringer wurden häufig eingeschoben.

Substanz	Dosis in mg	Zeit bei Durchströmung mit			
		Ringerlösung allein		Adrenalin-Ringerlösung	
		Ausgangswert	Höhepunkt	Ausgangswert	Höhepunkt
Äthylamin (*4*) *	20	28	50	—	—
,, ...	0,0005	—	—	95	138
Diäthylamin (*3*) . . .	20	26	39	—	—
,, ...	0,0005	—	—	90	119
Äthylendiamin (*1*) . .	20	25	25	—	—
,, ...	0,0005	—	—	81	189
Diäthanolamin	30	23	29	—	—
,, ...	0,0005	—	—	88	108
Diäthylaminoäthanol (*2*)	30	29	29	—	—
,, .	0,0005	—	—	93	160
Dioxyäthyläthylendiamin	20	31	31	—	—
,, (*5*)	0,0005	—	—	94	128

* Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf die Kurven der Abbildung.

verengerung irreparabler Art führte, so daß die Präparate nicht weiter verwendet werden konnten. Aus diesem Grunde wurden nunmehr erheblich größere Verdünnungen hergestellt und ungefähr diejenige Grenzdosis ermittelt, welche einen noch deutlichen, nicht zu intensiven Effekt bedingt.

Die tabellarische Aufstellung sowie die in der Abbildung ersichtliche Kurvenschar gibt die Verhältnisse schematisch zu erkennen. Es erweisen sich am mit Ringer durchströmten Präparat meist Dosen in der Größenordnung von 5—20 mg als konstriktorisch wirksam, während nach Adrenalindauerdurchströmung nur mehr Dosen in der Größenordnung von etwa 0,5 γ zur Erzielung eines deutlichen konstriktorischen Effektes notwendig waren.

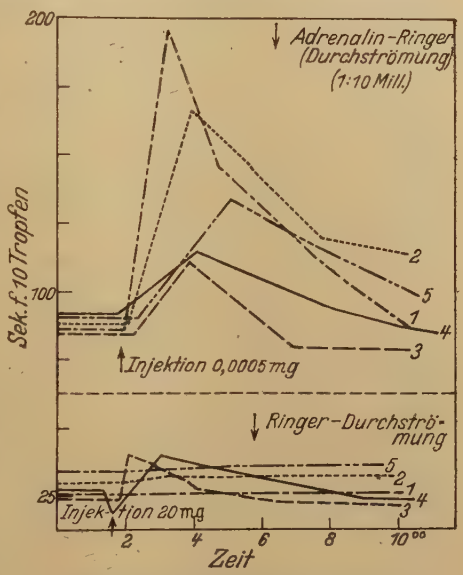


Abb. 1:
1 Äthylendiamin; *2* Diäthylaminoäthanol; *3* Diäthanolamin; *4* Diäthylamin; *5* Dioxyäthyläthylendiamin.

An dieser Stelle soll auf eine nähere Besprechung dieser Versuchsergebnisse, insbesondere aber auf das verschiedene Verhalten der einzelnen Amine untereinander, verzichtet werden ebenso wie auf gewisse Gesetzmäßigkeiten infolge der chemischen Abwandlung, die sich einigen früheren Befunden anschließen. Es muß diesbezüglich, auch bezüglich näherer zahlenmäßiger Angaben, auf die Dissertation des einen von uns * (Landbeck) verwiesen werden.

Die vorliegenden Befunde lassen klar erkennen, daß sich die untersuchten einfachen aliphatischen Amine ganz ähnlich verhalten, wie dies von Schaumann für das Ephedrin und Ephedrinderivate beschrieben wurde, und daß man berechtigt ist, hiernach von einer Sensibilisierung der Adrenalinwirkung im Sinne Schaumanns durch die aliphatischen Amine zu sprechen, denn dosismäßig betrachtet liegen die entsprechenden Zahlenwerte, z. B. für das Ephedrin, in einer ähnlichen Größenordnung.

Ephedrin verengert in einer Dosis von 1 mg bei normaler Ringerdurchströmung die Gefäße schwach, nach Adrenalindauerdurchströmung ähnlicher Konzentrationen jedoch wirken bereits 0,1—0,5 γ Ephedrin sehr intensiv.

* Landbeck: Dissertation Heidelberg 1947.

Wir können *zusammenfassend* zunächst feststellen, daß eine Anzahl einfachster aliphatischer Mono- und Diamine mit und ohne Hydroxylgruppen am Froschpräparat nach Läwen-Trendelenburg bei normaler Durchströmung mit Ringerlösung in hohen Dosen von 5—30 mg niemals eine Gefäßerweiterung zeigen, wie sie ja auch nicht erwartet werden kann, sondern zum Teil bei dieser Dosierung eine mehr oder weniger ausgeprägte Gefäßkontraktion in Analogie zum Cholin herbeiführen. Bei Dauerdurchströmung dagegen mit geeigneten Adrenalinkonzentrationen in Anlehnung an die Versuchsanordnung Schaumanns treten nicht die erwarteten spasmolytischen bzw. gefäßdilatatorischen Effekte auf, sondern, ganz analog, wie dieser Autor es für das Ephedrin und seine Derivate beschrieben hat, recht erhebliche und stärkste vasokonstriktorische Effekte bereits bei einer Gammadosierung. Es kann somit zunächst von einer „Sensibilisierung" der Adrenalinwirkung durch die im allgemeinen bisher als wenig wirksam betrachteten aliphatischen Amine gesprochen werden.

Auf die Erörterung eventueller Erklärungsmöglichkeiten der vorliegenden Befunde sei zunächst verzichtet, aber schon angedeutet, daß gerade das sonstige allgemein-pharmakologische Verhalten der aliphatischen Amine (Blutdrucksenkung, Spasmolyse usw.) die Annahme einer Adrenalinsensibilisierung auf der Basis unserer bisherigen Erkenntnisse nicht ohne weiteres zuläßt. Nach Barger und Dale [14] kommen zwar einigen auch in diese Reihe gehörigen aliphatischen Aminen gewisse angedeutete sympathomimetische Grundwirkungen zu, wie sie ja in ausgeprägtem Maße die Körper der Ephedrin-Adrenalinreihe aufweisen, jedoch ist uns von einer etwa hemmenden Wirkung der aliphatischen Amine in den in Frage kommenden Verdünnungen auf die adrenalinabbauenden Fermente (Aminoxydasen) nichts bekannt geworden. Es bestehen danach kaum Gründe, die vorliegenden Befunde etwa im Sinne Gaddums auf eine Hemmung der Aminoxydasen zurückzuführen. Hinzu kommt, daß ja Richter und Tingey [15] selbst von der Hypothese Gaddums abrücken und für das Ephedrin die zur Fermenthemmung notwendigen Konzentrationen in vitro als unphysiologisch hoch und deshalb eine derartige Fermenthemmung zur Erklärung der Ephedrinwirkung in vivo als unwahrscheinlich bezeichnen.

Es sind weitere Untersuchungen zur Klärung der vorliegenden Befunde notwendig und es könnten sich hieraus auch neue Erkenntnisse bezüglich des Wirkungsmechanismus nicht nur der aliphatischen Amine, sondern auch der aromatischen Sympathomimetika der Adrenalin-Ephedrinreihe anbahnen.

Zusammenfassung.

In Durchströmungsversuchen am Froschgefäßpräparat wurde für eine Anzahl von aliphatischen Aminen eine Sensibilisierung der Adrenalinwirkung im Sinne Schaumanns festgestellt.

Am nur mit Ringerlösung durchströmten Präparat ergaben in der Mehrzahl der Fälle erst hohe Dosen von 5 bis über 30 mg eine leichte Gefäßverengerung.

Nach Dauerdurchströmung des Gefäßpräparates mit Adrenalin-Ringerlösung dagegen genügten bereits γ-Dosen, um deutliche, zum Teil starke, konstriktorische Effekte herbeizuführen.

Auf die Schwierigkeit einer Deutung dieser unerwarteten Befunde wird hingewiesen.

Literatur.

[1] Läwen, A.: Arch. exper. Path. (D.) **51**, 415 (1904). — [2] Trendelenburg, P.: Arch. exper. Path. (D.) **63**, 161 (1910). — [3] Oliver and Schäfer: J. Physiol. (Brit.) **27**, 237 (1901). — [4] Cannon and Lymann: Amer. J. Physiol. **31**, 376 (1912). — [5] Samelson, S.: Arch. exper. Path. (D.) **66**, 347 (1911). — [6] Bauer, J. u. A. Fröhlich: Arch. exper. Path. (D.) **84**, 33 (1918). — [7] Hildebrandt, F.: Arch. exper. Path. (D.) **86**, 227 (1920). — [8] Csepal u. Doleschall: Arch. exper. Path. (D.) **134**, 109 (1928). — [9] Schaumann: Arch. exper. Path. (D.) **138**, 208 (1928). — [10] Richter, Schlossmann u. Mitarb.: Biochem. J. **31**, 2022, 2187 (1937). — [11] Orzechowski u. Mitarb.: Arch. exper. Path. (D.) **198**, 27 (1941). — [12] Hauschild, F.: Arch. exper. Path. (D.) **201**, 569 (1943). — [13] Schwarz, M. S.: Ber. Mil.-Akad. Moskau **1939**. Ref. nach Ber. Physiol. **1940**. — [14] Barger u. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 (1910). — [15] Richter and Pingey: J. Physiol. (Brit.) **97**, 265 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt).

Über Kumulation der Digitalisglykoside am Katzenherzen*.

Von

F. Hildebrandt.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Es lag nahe, die überraschenden Ergebnisse am Meerschweinchen auf ihre Gültigkeit an der Katze, dem klassischen Objekt für Untersuchungen über Kumulation zu prüfen. In der Einleitung der vorangehenden Arbeit wurde schon hervorgehoben, daß man von einer Kumulation der Substanz bei den Digitalisglykosiden nicht mehr sprechen kann, daß vielmehr die gesteigerte Empfindlichkeit, die sich in der mehr oder weniger verringerten „Auffülldosis" ausspricht, auf toxische Veränderungen in der Herzmuskulatur zurückzuführen ist. Eine Empfindlichkeitsverringerung, also Resistenzsteigerung, ist indessen bisher noch nicht festgestellt worden, hauptsächlich wohl deshalb, weil man bisher zur Prüfung des noch im Herzen verbliebenen Giftrestes hohe Digitoxindosen angewandt hat. So hat man sich mehr mit der toxischen Seite der Kumulation befaßt, und die Wirkungen der kleinen therapeutischen Dosen sind so der Beobachtung entgangen.

Digitoxin.

Von der in der Literatur [1, 2] mit 0,35 mg/kg angegebenen, subkutan letalen Dosis gaben wir 15 bzw. 30%.

Wie aus der Tabelle 1 ersichtlich, liegt 2 Tage nach der Vordosis von 15% der Durchschnittswert für die intravenös tödliche Strophanthindosis 30% über dem üblichen Durchschnittswert von 0,100 mg/kg. Die Streuung zwischen den drei Tieren ist nur sehr gering, die Abweichung vom Mittelwert nur 2,8%, so daß der Wert als gesichert gelten darf. 5 Tage nach der Vordosis sind die Werte wesentlich uneinheitlicher. Der Mittelwert liegt bei 0,102 mg, ist also praktisch der normale ohne Vordosis, doch sieht man deutlich, daß die Tiere sich dabei verschieden verhalten, was offenbar dadurch bedingt ist, daß bei zwei Tieren (Nr. 6 und 9) eine erhöhte Empfindlichkeit durch Schädigung der Herzmuskulatur vorliegt, während bei zwei anderen (Tier Nr. 4 und 7)

* Herrn Professor Dr. W. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

Tabelle 1. *Digitoxin.*

Vordosis: 15% der letalen Digitoxindosis s. c. Auffülldosis mit Strophanthin intravenös.

Tier Nr.	Auffülldosis nach Tagen	Tiergewicht in kg	Dosis letalis in mg/kg	% der letalen Strophanthin-dosis
1	2	2,3	0,126	126
2	2	3,1	0,136	136
3	2	1,9	0,127	127
		Mittelwert:	0,130	130
4	5	1,9	0,130	130
5	5	2,9	0,112	112
6	5	2,7	0,082	82
7	5	3,3	0,150	150
8	5	3,0	0,100	100
9	5	2,7	0,048	48
10	5	2,4	0,097	97
		Mittelwert:	0,102	102
11	8	2,7	0,087	87
12	8	2,2	0,092	92
13	8	2,1	0,100	100
		Mittelwert:	0,093	93

wieder eine Verminderung der Empfindlichkeit, oder besser gesagt Resistenzsteigerung dem Gift gegenüber auftritt. Die restlichen drei Tiere zeigen etwa den Normalwert.

Die drei Tiere, die 8 Tage nach der Vorinjektion geprüft wurden, zeigen wieder den normalen Durchschnittswert von 0,093 mg mit der geringen Abweichung von 4,6% vom Mittelwert.

Die hohe 30%ige Vordosis von Digitoxin, die eigentlich mehr zur Kontrolle geprüft wurde, zeigt das übliche Bild, wie es auch in der Arbeit von Fromherz und Bauer [3] in dem Diagramm auf S. 975 verzeichnet ist. Spontan war bis zu diesem Tag noch kein Tier gestorben. Sehr niedrige Werte weisen Tier Nr. 3 und 5 auf (nur die Hälfte der normalen tödlichen Dosis). Auch bei den Tieren Nr. 1, 2 und 6 liegen die Werte etwa 30% unter dem normalen tödlichen Wert. Nur Tier Nr. 4 ist in seiner Resistenz etwas gegenüber der Norm erhöht. Bei dieser hohen Dosis tritt also die „Kumulation" deutlich in Erscheinung. Wollte man einen Mittelwert aufstellen, was aber infolge der verschiedenen Reaktion der Tiere nicht statthaft ist, so käme auf einen um 26% unter dem normalen liegenden Wert.

Nach 5 Tagen ist die Empfindlichkeit dem Strophanthin gegenüber immer noch stark gesteigert, der Durchschnittswert liegt bei 0,076 mg/kg mit geringen Abweichungen.

Tabelle 2. *Digitoxin.*

Vordosis: 30% der letalen Digitoxindosis s. c. Auffülldosis mit Strophanthin intravenös.

Tier Nr.	Auffülldosis nach Tagen	Tiergewicht in kg	Dosis letalis in mg/kg	% der letalen Strophanthin-dosis
1	2	2,7	0,068	68
2	2	3,2	0,075	75
3	2	2,4	0,051	51
4	2	3,3	0,117	117
5	2	2,7	0,051	51
6	2	2,25	0,070	70
7	2	2,7	0,086	86
		Mittelwert:	0,074	74
8	5	1,7	0,077	77
9	5	1,9	0,067	67
10	5	2,6	0,084	84
		Mittelwert:	0,076	76
11	8	1,8	0,069	69
12	8	1,8	0,092	92
13	8	1,9	0,064	64
14	8	2,1	0,091	91
15	8	2,9	0,081	81
		Mittelwert:	0,080	80

Auch nach 8 Tagen sind die Tiere dem Strophanthin gegenüber noch empfindlicher als in der Norm, und zwar, wie aus der Tabelle 2 ersichtlich ist, in verschiedenem Maße.

Die kleinen und die großen Digitoxindosen wirken demnach im entgegengesetzten Sinne: Die kleine Dosis führt zu einer Resistenzsteigerung, die aber nach einigen Tagen abklingt, während die große Dosis von vorn herein die Tiere wesentlich empfindlicher für Strophanthin macht. Die gegenteilige Wirkung bei beiden Dosen schließt natürlich die Deutung der Ergebnisse im früheren Sinne als Folge der „Kumulation" völlig aus. Vielmehr ist durch die hohe Digitoxinvordosis eine so schwere Herzschädigung gesetzt, daß dadurch die Empfindlichkeit gegenüber dem Strophanthin stark angestiegen ist, während die kleine Digitoxindosis das Herz befähigt, höhere Dosen als in der Norm zu vertragen.

Strophanthin.

Analog den Digitoxinversuchen wurden 15 bzw. 30% der subkutan tödlichen Dosis von 0,15 mg/kg [2] verabfolgt und dann nach 2 bzw. 5 bzw. 8 Tagen die Auffülldosis festgelegt.

Zunächst die Resultate der kleinen Vordosis von 15%:

Tabelle 3. *g-Strophanthin Merck.*

Vordosis: 15% der letalen Strophanthindosis s. c. Auffülldosis mit Strophanthin intravenös.

Tier Nr.	Auffülldosis nach Tagen	Tiergewicht in kg	Dosis letalis in mg/kg	% der letalen Strophanthindosis
1	2	1,8	0,116	116
2	2	2,3	0,101	101
3	2	3,4	0,102	102
4	2	2,2	0,122	122
5	2	2,3	0,101	101
		Mittelwert:	0,108	108
6	5	2,3	0,089	89
7	5	1,8	0,107	107
8	5	2,2	0,100	100
9	5	2,1	0,090	90
		Mittelwert:	0,096	96

Wie aus der Tabelle 3 zu ersehen ist, liegen die Werte im Durchschnitt an allen geprüften Tagen um den normalen Mittelwert von 0,100 mg/kg herum. Von einer Steigerung oder Herabsetzung der Empfindlichkeit ist bei dieser kleinen Vordosis nichts zu bemerken.

Tabelle 4. *g-Strophanthin Merck.*

Vordosis: 30% der letalen Strophanthindosis s. c. Auffülldosis mit Strophanthin intravenös.

Tier Nr.	Auffülldosis nach Tagen	Tiergewicht in kg	Dosis letalis in mg/kg	% der letalen Strophanthindosis
1	2	1,9	0,091	91
2	2	1,5	0,112	112
3	2	2,2	0,094	94
4	2	2,5	0,129	129
5	2	1,8	0,089	89
		Mittelwert:	0,103	103
6	5	2,2	0,151	151
7	5	2,1	0,102	102
8	5	2,7	0,129	129
9	5	1,9	0,146	146
10	5	3,1	0,183	183
11	5	2,1	0,102	102
		Mittelwert:	0,136	136
12	8	2,7	0,074	74
13	8	1,9	0,138	138
14	8	1,8	0,092	92
15	8	2,1	0,107	107
16	8	2,2	0,116	116
		Mittelwert:	0,105	105

Dagegen ist aus der Tabelle 4 mit der höheren Vordosis bei einigen Tieren doch etwas herauszulesen. Zwei Tage nach der Vordosis ist die Empfindlichkeit der Tiere nicht verändert, der Mittelwert liegt bei 0,100 mg/kg, die Abweichung vom Mittelwert beträgt im Durchschnitt 13,6%. Am 5. Tag fallen dagegen 3 Tiere (Nr. 6, 9 und 10) durch einen gegenüber der normalen Streuung doch deutlich gesteigerten Wert auf. Der Durchschnitt liegt infolgedessen auch höher bei 0,136 mg/kg. Es ist natürlich die Frage, ob man hier berechtigt ist, einen Durchschnittswert zu errechnen. Offenbar ist es auch hier so, daß etwa die Hälfte der Tiere die normale Empfindlichkeit beibehalten hat, während die andere Hälfte durch die Vordosis dem Gift gegenüber resistenter geworden ist. Acht Tage nach der Vorinjektion liegt der Durchschnittswert wieder in der Norm, nur bei Tier Nr. 12 und 13 könnte man von einem stärkeren Abweichen vom Durchschnittswert sprechen.

Im ganzen gesehen ist also gegenüber dem Strophanthin die Reaktion der Tiere sowohl nach der Seite der Steigerung wie nach der Seite der Herabsetzung der Empfindlichkeit ungleich geringer als bei Digitoxin. Bei der kleinen Vordosis ist nichts zu bemerken, es fehlt also auch die „Kumulation", bei der großen Vordosis ist bei einem gewissen Prozentsatz der Tiere 5 Tage nach der Vorinjektion eine Zustandsänderung im Herzen eingetreten, die das Herz in die Lage versetzt, eine höhere Strophanthindosis als in der Norm zu ertragen.

Die Versuche an der Katze sind somit grundsätzlich analog denen am Meerschweinchen ausgefallen. Beide Tierarten zeigen je nach der vorausgegangenen Vordosis innerhalb eines bestimmten Intervalles eine Veränderung der Reaktion gegenüber der Giftwirkung des Strophanthins. Die kleine Digitoxindosis erhöht die Resistenz dem Strophanthin gegenüber im Gegensatz zur größeren, die sie deutlich absinken läßt. Die hier gefundene Resistenzsteigerung in einem bestimmten Zeitintervall steht im Einklang mit Befunden, die Weese und Dieckhoff [4] am Herz-Lungenpräparat von Katzen, die mit kleinen und größeren (0,1 bzw. 0,2 mg Digitoxin) Dosen vorbehandelt waren, erhoben haben. Bei der kleinen Dosis fanden die Autoren eine Erhöhung der Kraftentfaltung des Herzens bis zu 3 Tagen nach der Injektion, weiter eine Verringerung der Ermüdbarkeit und Verlängerung der Überlebensdauer. Die große Dosis setzte aber die Kraftentfaltung bald herab, obwohl sie die Überlebensdauer während einer Woche verlängerte und die Ermüdbarkeit gleichzeitig verringerte. Sowohl in den Versuchen von Weese und Dieckhoff als auch in meinen eigenen werden somit die „therapeutische" wie auch „toxische" Kumulation, wenn man diesen Ausdruck hier gebrauchen will, erfaßt.

Die Deutung der sowohl am Meerschweinchen wie an der Katze durch die höhere Digitoxin- bzw. Strophanthindosen gesetzten Herab-

minderung der Resistenz in einem bestimmten Zeitintervall gegenüber der tödlichen Wirkung des Strophanthins macht keine Schwierigkeiten. Sie ist im Sinne von Fromherz und Bauer, Weese, Lendle, Büchner usw. als durch Schädigung der Herzmuskulatur bedingt aufzufassen. Wodurch aber die Resistenzsteigerung durch die kleineren Vordosen hervorgerufen wird, ist vorläufig noch nicht zu sagen. Jedenfalls ist anzunehmen, daß sich im Stoffwechsel des Herzens irgendwelche Prozesse abspielen — vielleicht hervorgerufen im Verein mit einer besseren Kapillarisierung —, die das Herz einer Giftwirkung gegenüber resistenter machen.

Zusammenfassung.

Analog zu Versuchen über die Kumulation von Digitoxin und Strophanthin am Meerschweinchen wird an der Katze nachgewiesen, daß unter der Einwirkung von einer kleinen Digitoxinvordosis in einem bestimmten Zeitintervall die Resistenz gegenüber Strophanthin eine Steigerung erfährt, während eine größere Digitoxindosis die Empfindlichkeit der Katzen steigert.

Eine kleine Strophanthinvordosis führt nach 2 Tagen zu einer geringfügigen, praktisch noch in die Fehlergrenze fallenden Resistenzsteigerung, die nach 5 Tagen abgeklungen ist. Eine höhere Strophanthindosis steigert am 5. Tag die Resistenz in deutlicher Weise, ist aber nach 8 Tagen wieder abgeklungen.

Literatur.

[1] Weese: Digitalis, 1936. — [2] Lendle: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Erg.-Bd. 1. 1935. — [3] Fromherz u. Bauer: Klin. Wschr. **1933**, 973. — [4] Weese u. Dieckhoff: Arch. exper. Path. (D.) **176**, 274 (1934).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Leipzig (Direktor: M. Gildemeister †) und dem Pharmakologischen Institut der Friedrich-Schiller-Universität Jena (kommissar. Direktor: H. Hofmann).

Über jahreszeitliche Schwankungen der Permeabilität tierischer Membranen*.

Von

H. Hofmann.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

I. Einleitung und Problemstellung.

Bei dem Studium der pharmakologischen Beeinflussung der Permeabilität tierischer Membranen, die wir mit Hilfe der Methode der Impedanzkurvenmessung nach Gildemeister an einem sehr großen Untersuchungsmaterial und während eines Zeitraumes von mehreren Jahren durchführten[1], konnten wir die Beobachtung machen, daß die Durchlässigkeit unserer Untersuchungsobjekte im Verlaufe eines Jahres charakteristische Schwankungen aufwies, die uns dazu anregten, die Frage der jahreszeitlichen Veränderungen der Grenzflächenpermeabilität einer besonderen Untersuchung zu unterziehen. Bei unseren Permeabilitätsstudien, die zumeist an der Froschhaut durchgeführt wurden, zeigte es sich, daß die Membranen im Winter eine bedeutend geringere Grenzflächendurchlässigkeit aufwiesen, als im Sommer. Bei einer mathematisch-statistischen Auswertung der Ergebnisse ergab sich weiterhin, daß gleichzeitig mit der Zunahme der Permeabilität, wie sie in den Sommermonaten zu beobachten war, eine Zunahme des mittleren Fehlers des Mittels auftrat. Gleichlaufend damit war zu beobachten, daß bei den im Sommer durchgeführten Versuchen, die durch Einwirkung von Pharmaka hervorgerufenen Veränderungen der Durchlässigkeit der Zellgrenzflächen nicht so gleichartig nachweisbar waren, wie bei gleichartigen Untersuchungen an Wintertieren.

Diese Beobachtungen erschienen uns deshalb von einem besonderen Interesse zu sein, da für uns Pharmakologen die saisongebundene Veränderung der Giftempfindlichkeit tierischer Organe ein besonders gut bekanntes Phänomen darstellt über das schon zahlreiche Erörterungen angestellt worden sind, ohne daß dieses Problem bisher hinreichend erklärt werden konnte. Der Nachweis jahreszeitlicher Schwankungen

* Herrn Prof. Dr. Heubner zu seinem 70. Geburtag gewidmet.

der Grenzflächendurchlässigkeit tierischer Membranen konnte geeignet sein, einen Beitrag zu der Klärung der Frage der jahreszeitlichen Schwankungen der Giftempfindlichkeit zu geben. Von besonderem Interesse erschien in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß im Anschluß an einen Vortrag des Verfassers in Zürich[2] LAPIQUE und COLE über ähnliche Fälle berichten konnten. Es wurde hierdurch die Anregung für die Durchführung eingehender Untersuchungen gegeben, über die wir in der vorliegenden Arbeit berichten.

Die Permeabilitätsmessungen, über die wir im folgenden berichten, wurden mit Hilfe der (sog.) Impedanzkurvenmessung durchgeführt, wie sie vornehmlich von GILDEMEISTER[3] und seiner Schule zur laufenden Messung der Grenzflächendurchlässigkeit benutzt wurde. Die Gültigkeit dieser elektrischen Methode der Permeabilitätsmessung wurde zunächst von GILDEMEISTER[3] eingehend begründet, später von DIEHL[4] mit Modellmessung und Versuchen an menschlicher Haut und schließlich von der GILDEMEISTERschen Schule (LULLIES[5], BISKUPSKI[6], GERSTNER[7], HOFMANN[1, 2]) bei gleichzeitiger Messung der Permeabilität auf chemischem und elektrischem Wege bestätigt. Die Methode benutzt zur elektrischen Bestimmung der Durchlässigkeit des Untersuchungsobjektes die Messung der Impedanzkurve, wie sie durch Bestimmung des Wirk- und des Blindwiderstandes nach der Durchströmung des Objektes mit sinusreinem Wechselstrom verschiedener Frequenzen unschwer ermittelt werden kann. Der hierbei ermittelte Phasenwinkel φ oder der Verlustwinkel $90 - \varphi$ stellen ein direktes Maß der Durchlässigkeit der Zellgrenzflächen dar. Ein kleiner Verlustwinkel bedeutet eine geringe Durchlässigkeit, ein Größerwerden dieses Winkels, ein Ansteigen der Permeabilität.

II. Methode.

Als Untersuchungsmaterial diente im ersten Teil der vorliegenden Arbeit ausschließlich Bauchhaut von Rana esculenta. Für die Messung wurde eine Tonfrequenzmeßbrücke in der bekannten symmetrierten Form von KOHLRAUSCH mit sog. WAGNERschem Hilfskreis verwendet (s. Abb. 1).

Die Stromquelle war ein von der GILDEMEISTERschen Schule entwickelter Gegentaktsender mit sinusreinen Schwingungen im Bereiche von 50—10000 Hz. Ein Spezial-Spannungsverstärker führte die Spannung des Nullkreises an das horizontale Ablenkplattenpaar einer BRAUNschen Röhre, an deren vertikalen Ablenkplatten die Spannung des Senders direkt lag. Durch Benutzung eines Kathodenstrahloszillographen als Nullinstrument war es möglich, die Messung der Impedanzkurven auch in extremen Frequenzlagen einwandfrei durchzuführen. Das

Untersuchungsobjekt war in einer aus der Abb. 2 ersichtlichen Weise einem Glasrohr von 19 mm Weite aufgebunden. Es wurde innen mit Ringer, außen mit $^1/_5$ Ringerlösung bespült. Als Elektroden dienten platinierte Silberbleche.

Die Messung der Impedanzkurven erfolgte bei 5 verschiedenen Frequenzen, und zwar bei 120, 680, 1050, 1560 und 3500 Hz. Der Verlustwinkel, der als Maß der Grenzflächendurchlässigkeit gilt, wurde durch graphische Darstellung der Impedanzkurve (Abb. 3) ermittelt.

Der Wirkwiderstand W wird mit der Tonfrequenzmeßbrücke direkt gemessen. Der Blindwider-

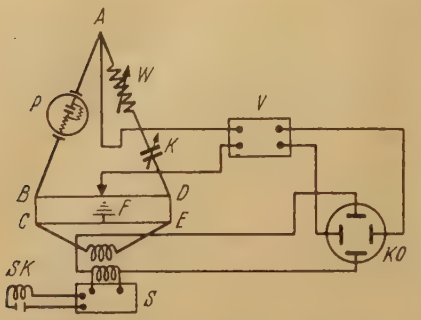


Abb. 1. *A, B, C, D, E* Tonfrequenzmeßbrücke (symmetrisch nach Kohlrausch) mit Wagnerschem Hilfskreis; *KO* Kathodenstrahloszillograph im Nullkreis an Spezialverstärker *V*; *K* variabler Kondensator; *W* variabler Widerstand; *T* Untersuchungsobjekt an unpolarisierten Elektroden; *SK* Schwingkreis des Senders. *F* Erdleitung.

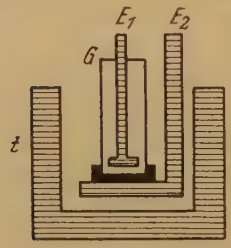


Abb. 2. Anordnung der zu untersuchenden Membranen und der Elektroden. E_1 und E_2 unpolarisierbare Silberelektroden; *G* Glasrohr; *t* temperaturisoliertes Gefäß.

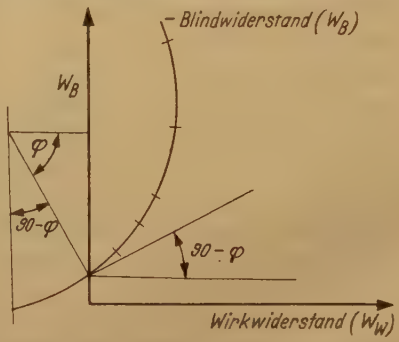


Abb. 3. Wirkwiderstand (W_W). φ = Phasenwinkel $\operatorname{tang} = W_B/W_W$; $90-\varphi$ Verlustwinkel. Impedanz $= W_W^2 + W_B^2$, Blindwiderstand $\left(W_B = \frac{1}{\omega \cdot C}\right)$.

stand wird durch Ermittlung der Polarisationskapazität und Berechnung aus der Formel $W_B = \frac{1}{\omega C}$ gewonnen. Für die Impedanz gilt dann:

$$I = W_W^2 + W_B^2, \quad \operatorname{tang} \varphi = \frac{W_W}{W_B}, \quad \omega = 2\pi \cdot n;$$

$$n = \text{Schwingungszahl } \sec^{-1}.$$

Bezüglich weiterer Einzelheiten sei auf die ausführliche Darstellung des Verfassers in einer früheren Arbeit verwiesen. (Statistische Auswertung nach der Methode der Studentenregel[8].)

III. Versuchsergebnisse.

Wir bringen in Tabelle 1 eine Zusammenstellung der Verlustwinkel wie sie von uns bei einer Serie Winterfrösche im Dezember 1937 und einer Serie Sommerfrösche aus dem Juli 1938 gemessen wurden. Das Mittel der Wintertiere mit $31 \pm 1{,}2^0$ liegt signifikant unter dem Mittel der Sommertiere mit $51 \pm 1{,}8^0$.

Es ergibt sich hieraus, daß die Durchlässigkeit der Zellgrenzflächen im Laufe der Wintermonate eine bedeutend geringere ist als im Sommer.

Es war in diesem Zusammenhang von gewissem Interesse zu untersuchen, ob bei unserem Untersuchungsmaterial ein Unterschied in der Durchlässigkeit der Membran zwischen männlichen und weiblichen Tieren vorhanden ist. Wir hatten die Beobachtung gemacht, daß im allgemeinen die Permeabilität der Haut weiblicher Tiere etwas über der männlicher Tiere liegt.

Ein Mittelwert, der aus je 20 Versuchen an männlichen und weiblichen Tieren im Dezember 1936 gewonnen wurde, ergab einen Verlustwinkel von $32 \pm 1{,}5^0$ für männliche Tiere und $35 \pm 1{,}9^0$ für weibliche Tiere.

Die Differenz der Mittel ist in diesem Falle nicht signifikant. Interessant ist der Befund, daß während der Laichzeit die Werte eine Besonderheit zeigen. Am 2. 4. 38 wurde in je 10 Versuchen ein Verlustwinkel von $39 \pm 2{,}1^0$ für männliche Tiere und $35 \pm 3{,}9^0$ für weibliche Tiere gemessen.

Die Differenz dieser beiden Mittel ist ebenfalls nicht signifikant. Es fällt aber hierbei auf, daß die Streuung des Mittels der Verlustwinkel ♀ stark ansteigt.

Am 2. 5. 38 wurde in je 10 Versuchen $46 \pm 1{,}9^0$ für männliche Tiere und $49 \pm 2{,}7^0$ für weibliche Tiere gemessen.

Die Durchlässigkeit der Zellgrenzflächen ist also auch hier weiterhin gegenüber dem Vormonat angestiegen, die Streuung der Mittel der weiblichen Tiere jedoch wieder zurückgegangen. Interessanterweise haben wir während der Laichzeit die Beobachtung gemacht, daß die Reaktion unseres Versuchsmaterials auf die Einwirkung von Pharmaka eine unregelmäßigere war und daß insbesondere die Hautpräparate weiblicher Tiere während dieser Zeit keine gleichbleibenden Resultate ergaben. Aus unserem Versuchsmaterial haben wir den Verlustwinkel von Froschhautpräparaten männlicher und weiblicher Tiere im Verlaufe eines ganzen Jahres durch Berechnung der Mittel festgelegt. Diese Werte sind in der Tabelle 2 zusammengestellt worden.

Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, daß es mit Eintritt des Herbstes bei männlichen und weiblichen Tieren zu einem Absinken der Zellgrenzflächendurchlässigkeit kommt. Im Februar beginnen dann die Werte langsam wieder anzusteigen, um das Maximum im August zu erreichen.

Auch aus der hier reproduzierten Tabelle geht der Anstieg der Streuung mit Eintritt der Laichzeit ganz besonders bei den weiblichen Tieren deutlich hervor.

Tabelle 1. *Verlustwinkel der Impedanzkurven von 10 Fröschen im Dezember 1936, 10 Fröschen im April und 10 Fröschen im August.*

Verlustwinkel in Grad		
Dezember	April	August
29	42	52
34	36	57
32	30	49
30	47	44
25	50	43
36	46	49
32	33	54
34	46	55
27	49	45
31	50	41
$31 \pm 1{,}2°$	$39 \pm 2{,}7°$	$51 \pm 1{,}8°$

Tabelle 2. *Verlustwinkel der Impedanzkurven von Froschhautpräparaten männlicher und weiblicher Tiere im Verlaufe eines Versuchsjahres (Rana esculenta). Mittelwerte aus je 10—18 Versuchen.*

Monat	männlich	weiblich
September . . .	$44 \pm 1{,}7$	$47 \pm 1{,}9$
Oktober	$34 \pm 1{,}2$	$36 \pm 1{,}4$
November . . .	$31 \pm 1{,}8$	$39 \pm 2{,}1$
Dezember . . .	$32 \pm 1{,}5$	$35 \pm 1{,}9$
Januar	$32 \pm 1{,}6$	$34 \pm 1{,}7$
Februar	$33 \pm 1{,}7$	$34 \pm 1{,}8$
März	$35 \pm 2{,}1$	$39 \pm 3{,}2$
April	$39 \pm 2{,}1$	$42 \pm 3{,}9$
Mai	$46 \pm 1{,}9$	$49 \pm 2{,}7$
Juni	$50 \pm 2{,}1$	$51 \pm 2{,}4$
Juli	$51 \pm 1{,}9$	$53 \pm 1{,}9$
August	$51 \pm 1{,}8$	$54 \pm 1{,}9$

Die statistische Berechnung ergibt auch hier eine signifikante Differenz zwischen den Werten, die im Frühling, Hochsommer, Herbst bzw. Winter gewonnen wurden.

Da unser Versuchsmaterial stets mit dem beginnenden Frühling schlechte, d. h. nicht gleichbleibende Resultate ergab, haben wir versucht, das Ansteigen der Permeabilität der Haut unserer Versuchstiere zu verhindern. Wir haben zu diesem Zwecke die Tiere im üblichen Froschvorratsgefäß in einem mit Eis gefüllten Schrank im Keller des Instituts aufbewahrt. Auf diese Weise haben wir uns sog. „Kaltfrösche" gehalten, deren Meßresultate im Permeabilitätsversuch auch tatsächlich noch während der Monate März, April und Mai zuverlässige Ergebnisse brachten.

Tabelle 3. *Veränderung der Impedanzkurven (Verlustwinkel) in den Frühjahrsmonaten nach der Haltung von Fröschen bei niederer Temperatur.*

Kaltfrösche: 1. Versuch.

	männlich	weiblich
Dezember . . .	$32 \pm 1{,}5$	$35 \pm 1{,}9$
im Eisschrank	$4{,}2 \pm 0{,}3°$	Temperat.
Januar.	$32 \pm 1{,}7$	$34 \pm 1{,}8$
Februar	$33 \pm 1{,}9$	$34 \pm 2{,}0$
März	$33 \pm 2{,}1$	$35 \pm 2{,}3$
April	$35 \pm 2{,}2$	$36 \pm 2{,}6$
Mai	$36 \pm 1{,}5$	$37 \pm 2{,}9$

Die Mittel der Verlustwinkel der Tiere, die wir aus Versuchen mit je 10 Tieren gewonnen haben, sind in Tabelle 3 zusammengestellt worden.

Wir ersehen aus der Tabelle, daß es durch Kalthalten der Tiere tatsächlich gelingt, den Anstieg der Zellgrenzflächendurchlässigkeit, der

regelmäßig im Frühling aufzutreten pflegt, zu vermindern, bzw. wenigstens zeitlich um etwa 4—6 Wochen aufzuschieben.

Wurde das Tiermaterial erst relativ spät in den Eisschrank gebracht, beispielsweise in einem Versuch vom April 1937, wobei die Tiere erst am 2. 3. in das Eis kamen, so wurden die in Tabelle 4 genannten Werte erhalten.

Es ist in diesem Falle offensichtlich bereits bei den Tieren im März eine weitgehende Veränderung vorgegangen, so daß der Permeabilitätsanstieg und gleichzeitig auch das Ansteigen der Streuung der Mittel nicht mehr verhindert werden kann.

Tabelle 4. *2. Versuch.*

	männlich	weiblich
erst am 2.3. in Eis gebracht		$4{,}4 \pm 0{,}5^0$
Vorwerte . .	$33 \pm 1{,}7$	$34 \pm 1{,}8$
in Eisschrank gebracht:		
April	$36 \pm 2{,}0$	$39 \pm 3{,}2$
Mai	$39 \pm 2{,}4$	$41 \pm 3{,}2$

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Versuche haben ergeben, daß die Durchlässigkeit der Zellgrenzflächen von Froschhaut im Laufe des Jahres charakteristische Veränderungen durchmacht. Es kommt während der Wintermonate zu einer weitgehenden Verminderung der Durchlässigkeit. Während die Ionenpermeabilität im Frühjahr beginnend und im Sommer weiter ansteigend ihr Maximum im August erreicht. Ein Unterschied hinsichtlich der Durchlässigkeit der Präparate männlicher und weiblicher Tiere war nicht nachweisbar. Es zeigten jedoch vor allem die weiblichen Tiere während der Laichzeit einen Anstieg der Streuung. Mit den vorliegenden Untersuchungen ist somit der mathematisch-statistische Beweis erbracht, daß die Durchlässigkeit der Haut eines unserer wichtigsten Versuchstiere, des Frosches, jahreszeitlich gebundene, rhythmische Schwankungen aufweist.

Wir haben schon weiter oben erwähnt, daß wir bereits sehr früh bei unseren Permeabilitätsstudien die Beobachtung gemacht haben, daß die Hautpräparate im Frühjahr im allgemeinen schlechter, insbesondere ungleichmäßiger auf die Einwirkung von Pharmaka ansprechen. Cole und Lapique konnten dem Verfasser auf dem 18. Internationalen Physiologenkongreß in Zürich ähnliche Beobachtungen mitteilen.

Durch die vorliegenden Versuchsergebnisse ist mit dem Nachweis saisongebundener Permeabilitätsveränderungen und gleichzeitig auch Veränderungen der Giftempfindlichkeit erneut ein gewisser Hinweis auf den Mechanismus der jahreszeitlichen Schwankungen die Empfindlichkeit des Tier- und Organmaterials gegenüber Pharmaka erbracht worden. Wir möchten in diesem Zusammenhang abschließend die Ergebnisse der Impedenzkurvenmessung von Herzmuskelpräparaten, Magenschleimhaut und Kloakenschleimhaut während der Monate Januar bis Mai bringen.

Die Verlustwinkel, die in Tabelle 5 zusammengestellt wurden, zeigen, daß es auch für andere tierische Membran offensichtlich Schwankungen

Tabelle 5. *Verlustwinkel der Impedanzkurven von Präparaten aus Herzmuskel, Magenschleimhaut und Kloakenschleimhaut während der Monate Januar bis Mai 1938 (Rana esculenta).*

Monat	Herzmuskel		Magenschleimhaut		Kloake	
	männlich	weiblich	männlich	weiblich	männlich	weiblich
Januar	49 ± 2,2	48 ± 1,1	36 ± 0,6	34 ± 0,7	30 ± 1,1	31 ± 0,9
Februar	47 ± 2,1	47 ± 2,2	35 ± 1,1	32 ± 1,4	29 ± 1,2	27 ± 0,9
März	51 ± 3,9	56 ± 3,7	39 ± 1,9	37 ± 2,0	30 ± 1,9	36 ± 1,5
April	50 ± 2,5	54 ± 3,4	40 ± 2,1	41 ± 2,2	34 ± 2,1	40 ± 3,1
Mai	54 ± 2,7	51 ± 2,9	42 ± 3,3	41 ± 2,4	39 ± 2,6	39 ± 2,9

der Durchlässigkeit gibt, die dadurch charakterisiert sind, daß es mit dem Eintritt der wärmeren Jahreszeit zu einem Anstieg der Zellgrenzflächendurchlässigkeit kommt.

Eine derartige Schwankung der Durchlässigkeit ist aber zweifellos geeignet, gleichzeitig auch eine Veränderung der Ansprechbarkeit gegenüber Pharmaka hervorzurufen. Zu dieser Frage haben wir weitere Untersuchungen zusammen mit Gildemeister angestellt, über die wir später berichten werden.

Bei diesem Versuch ist es interessanterweise gelungen, den Nachweis zu führen, daß die jahreszeitlichen Veränderung der Hautpermeabilität offenbar hormonal gesteuert wird.

Zusammenfassung.

Es wird über jahreszeitliche Veränderungen der Durchlässigkeit der Zellgrenzflächen von Froschhaut, Froschherzmuskel, sowie Froschmagen- und Darmschleimhaut berichtet. Die Permeabilitätsveränderungen verliefen in der Weise, daß die Durchlässigkeit in den Wintermonaten signifikant absinkt gegenüber der in den übrigen Jahreszeiten.

Das Maximum der Permeabilität liegt etwa im August.

Zur Laichzeit steigt die Grenzflächendurchlässigkeit an und gleichzeitig vergrößert sich auch die Streuung des Mittels. Gleichlaufend mit der Veränderung der Grenzflächenpermeabilität tritt eine Veränderung der Empfindlichkeit gegenüber der permeabilitätsverändernden Wirkung verschiedener Pharmaka ein.

Es wird die Bedeutung der hier nachgewiesenen saisongebundenen Veränderung der Durchlässigkeit der Zellgrenzflächen für die saisongebundenen Veränderungen der Giftempfindlichkeit mancher tierischer Organe diskutiert.

Literatur.

[1] Hofmann, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **201**, 529 (1943). — [2] Hofmann, H.: Bericht 18. Internationaler Physiologen-Kongreß, Bd. 3, S. 257. Zürich 1938. — [3] Gildemeister, M.: Bethe-Bergmanns Handbuch, Bd. 3, S. 257; Bd. 8/2, S. 657. — [4] Diehl, F.: Z. exper. Med. **100**, 455 (1938). — [5] Lullies: Pflügers Arch. **207**, 8 (1925). — [6] Biskupski: Pflügers Arch. **240**, 287 (1938). — [7] Gerstner: Pflügers Arch. **244**, 68 (1940). — [8] Fisher: Statical methods for research workers. Edinburgh 1938.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle).

Zur Wirkungsweise neuer insektizider Stoffe*.

Von

Irmgard Hoffmann und Ludwig Lendle.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Unter den für die Schädlingsbekämpfung verwendeten Stoffen ist das neue Präparat DDT (Dichlordiphenyltrichlormethylmethan) nach den großen praktischen Erfahrungen, die in U.S.A. während des Krieges gesammelt wurden, besonders geeignet, weil es für den Warmblüter praktisch ungiftig sein soll. Unter den üblichen Anwendungsbedingungen konnte es ohne Gefahr einer Gesundheitsschädigung für den Menschen in großem Ausmaß eingesetzt werden. Diese Beurteilung ist durch vielfache experimentelle Prüfungen des Mittels, das zuerst von der Firma Geigy, Basel, unter dem Namen „Gesarol" hergestellt wurde, gut begründet**.

In neueren Arbeiten wurde von Läuger, Martin und P. Müller [1], Domenjoz [2], Riemenschneider [3] die Entwicklung des DDT-Wirkstoffes, seine Anwendungsform und Wirkungsweise beschrieben, sowie über experimentelle Erfahrungen berichtet. Bei chemischen Synthesen zur Herstellung neuer Insektizide wurde der Wirkstoff von p,p'-halogenierten, zweikernigen Benzolderivaten abgeleitet. Obgleich die Verbindung schon längere Zeit bekannt war, wurde ihre biologische Wirksamkeit erst im Rahmen der jüngeren Forschungen auf dem Gebiete der Schädlingsbekämpfung entdeckt. Die nahe Verwandtschaft des DDT mit dem als vorzüglich bekannten Fraßgift Dichlordiphenylsulfon, — man kann sich das DDT entstanden denken durch Ersatz der Sulfongruppe durch die Gruppe $=CH—CCl_3$, — sowie sein Aufbau aus einer toxischen und einer lipoidlöslichen Gruppe, erlaubt bestimmte Vorstellungen, die für die Erklärungen des toxischen Verhaltens bestehen. Das Dichlordiphenylsulfon hat neben der Strukturverwandtschaft mit den Sulfonamiden die gleiche biologische Basis: Fermenthemmung bzw. Fermentblockierungen. Das DDT hat den natürlich vorkommenden Insektiziden, z. B. dem Rotenon, den Pyrethrinen

* Herrn Professor Dr. Wolfgang Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

** Das Präparat wird von verschiedenen deutschen Firmen unter folgenden Namen in den Handel gebracht: „Gix" I.G. Farben, Höchst; „Duolit" Böhme Fettchemie; „Gesarol" und „Multocid" Schering A.G. Wir verdanken der Firma Böhme Fettchemie die Überlassung der Substanz.

gegenüber den Vorzug der Beständigkeit gegen Licht und biologische Oxydation und der irreversiblen Schädigung des Parasiten (Läuger [1]). Seine Harmlosigkeit für den Warmblüter macht es den oftmals schädigend wirkenden Atemgiften gegenüber überlegen. Seine überragende Bedeutung erlangt es jedoch durch seine Eigenschaft, durch bloßen Kontakt mit dem Schädling seine Wirksamkeit zu entfalten. Gleichzeitig besteht für jedes Kontaktgift die Möglichkeit, als Fraßgift aufgenommen zu werden. Da die Wirkungsentfaltung von Fraßgiften wegen der Verschiedenheit der Nahrungsaufnahme von Insekten (Saugtypus, Fraßtypus) und der Abhängigkeit der Giftwirkung von der aufgenommenen Dosis oftmals in Frage gestellt wird, könnten diese Probleme durch ein Kontaktinsektizid gelöst werden, zumal auch die Wirkung hochwirksamer Fraßgifte durch Spezifität ihrer Fermenthemmung bei den vielseitigen Gemischen von Fermenten im intermediären Stoffwechsel problematisch werden kann.

Die Bezeichnung „Kontaktgift" läßt die Frage aufkommen, wie die Aufnahme und Verteilung eines solchen Stoffes im Organismus zustande kommt. DDT ist praktisch in Wasser unlöslich. Jedoch ist die Löslichkeit in Öl, Alkohol, Äther, Lipoiden gut. Ein lipoidlösliches Kontaktgift kann sofort von den Lipoiden und Lipoproteinen der Epicuticula, der Chitinpanzerung und der Hypodermis eines Insektes aufgenommen und durchgelassen werden. Eine weitere Aufnahmemöglichkeit ist durch die sensiblen und sensorischen Organe, z. B. an den Tarsen oder durch die vielen Poren, durch die die Sinneshaare und Tentakeln austreten, gegeben, wobei für die schnelle Verteilung des Giftes bei diesen Eintrittspforten wegen der Kleinheit der Poren das r^4 des Poiseuilleschen Gesetzes zur Auswirkung kommt.

Über den Wirkungsmechanismus bestehen Vorstellungen, die durch die Bezeichnung „typisches Nervengift" in ihrer Richtung gekennzeichnet sind. Es wird angenommen, daß das Gift gelöst in den Lipoiden der endoneuralen Lymphbahnen transportiert wird, um seine Wirkung auf nervöse Elemente auszuüben. Das Vergiftungsbild zeigt Koordinationsstörungen, Störungen der Lokomotion, Dauertremor und tonisch-klonische Krämpfe. Eine Kontaktgiftwirkung soll nur an Insekten zustande kommen. Bei geeigneten Verabreichungsbedingungen läßt sich auch eine Vergiftung des Warmblüters hervorrufen, bei der zentralnervöse Symptome das Bild beherrschen, die nach Domenjoz [2] dem amyostatischen Symptomenkomplex gleichen. Auch an isolierten Fliegenbeinen lassen sich durch Kontakt mit dem Gift Krämpfe hervorrufen, die vorübergehend narkotisierbar sind (Domenjoz [2], Läuger [1]). Am Ganztier kommt es bei der Vergiftung zur Autotomierung. Neurotrope Spasmolytika heben die Krämpfe auf (Läuger [1]).

Beim Vergleich der Toxizität verschiedener gegen Parasiten angewendeter Mittel wird immer wieder beschrieben, daß minimalste Mengen von DDT „im Bereich der Gamone und Termone" (Läuger [1]) genügen, um auf den Insektenorganismus tödlich zu wirken. Harms [4] gibt dagegen an, daß 1%ige Sublimatlösung in der dermatologischen Praxis angewandt, erwachsene Läuse noch nicht abtötet. 3—5%ige Kresolseife tötet Eier und Läuse nach 60 Min. ab. Versuche von Domenjoz [2] ergaben, daß z. B. 0,1%ig mit DDT imprägniertes Gewebe in etwa 46 Stunden Kleiderläuse sicher abtöte. Hinsichtlich der niederen Konzentrationen, die genügen sollen, um dem Kontaktinsektizid volle Wirkung zu ermöglichen, wird in der Literatur von Riemenschneider [3] schon der Vorschlag gemacht, die Bezeichnung „Kontaktstoffe" etwa im Sinne der chemischen Katalysatoren für diese Körper anzuwenden.

Bei der Analyse tritt vielfach der Name „*Nervengift*" auf, und zur Charakterisierung wird Wanderung über den Nerven in Parallele zum Verhalten des Tetanustoxins H. H. Meyer [5] diskutiert*. Die Bezeichnung „Nervengift" ist sonst in der Pharmakologie hauptsächlich üblich zur Kennzeichnung von Hautreizgiften, bei denen Schmerzempfindung, Gefühl von Brennen durch Erregung peripherer Nervenelemente ausgelöst wird. Heubner [7] hat sich in seinen Studien auch mit der experimentellen Klärung dieses Begriffes beschäftigt. Er gab eine Einteilung der Reizstoffe nach ihrem Angriffspunkt am Nerv, an Kapillaren oder an gewöhnlichen Gewebszellen. Danach lassen sich einige Stoffe, z. B. Veratrin und die Pfefferstoffe, durchaus als „typische Nervengifte" ansprechen, da sie ihre Reizwirkung völlig auf die Nerven beschränken. Es ist unerwünscht, solche festliegenden Begriffe allgemeiner zu verwerten, z. B. für die Kennzeichnung von Fermentgiften wie HCN, oder von Narkotika, kollapserzeugenden Mittel, insbesondere für Stoffe mit zentralnervöser Wirksamkeit. Bei der Einwirkung insektizider Stoffe auf niedere Tierarten mit gänzlich anders geartetem Nervensystem ist bei der Übertragung dieses Begriffes eine besondere Kritik angemessen. Es sei auch erwähnt, daß man gelegentlich Gifte mit „ganglionärem" Angriffspunkt in die Gruppe solcher Nervengifte einzureihen pflegt.

Die vorliegende Arbeit mag in diesem kritischen Sinne auch einer begrifflichen Klärung durch Analyse der Wirkungsbedingungen insektizider Stoffe dienen.

Bei der Durchsicht der bisherigen Literatur über insektizide Stoffe ergab sich als Hauptaufgabe die Beantwortung folgender Fragen:

1. Besteht wirklich eine „Spezifität" für Insekten oder ist sie nur scheinbar?

* Nach neueren Arbeiten von C. Rossi [6] muß die Anschauung über die Leitung des Toxins im Nerven revidiert werden.

2. Beruht eine solche Toxizität auf etwaigen spezifischen Stoffwechselbedingungen (Fermentreaktionen) bei Insekten?

3. Welche Angriffspunkte biologischer und chemischer Art sind für die DDT-Wirkung anzunehmen?

Um diese Fragen eindeutig entscheiden zu können, war es vor allen Dingen notwendig, vergleichend quantitative Prüfungen durchzuführen. Nur bei klarer Feststellung von Grenzdosen oder Grenzkonzentrationen, die signifikante, also außerhalb der üblichen Streuung liegende Unterschiede aufwiesen, konnte eine besondere Spezifität von Tierarten oder Organwirkungen angenommen werden. Insofern bedeutet die Einschaltung einer quantitativen pharmakologischen Betrachtungsweise auch im Sinne von Loewes [8] „Quantitative Probleme der Pharmakologie" eine Förderung der Erforschung insektizider Stoffe, die sonst nur ein Seitengebiet der modernen Pharmakologie darstellt.

A. Quantitative Vergleichung der Wirksamkeit an in Wasser lebenden Tieren.

Bei Schwimmversuchen mit in Wasser lebensfähigen Tieren lassen sich die wirksamen Grenzkonzentrationen besonders leicht feststellen. Die Anordnung erlaubt es, im zeitlosen Versuch im Gleichgewicht der Verteilung zu arbeiten, so daß Konzentrationsausgleich unabhängig von Resorption und Elimination gewährleistet ist.

Für unsere toxikologischen Untersuchungen bereiteten wir die DDT-Lösung wie folgt: ausgehend von der Stammlösung, die sich in heißem, reinen Äthylalkohol 4%ig herstellen ließ, bereiteten wir gewöhnlich eine Verteilung 10^{-3} in Wasser unter Zusatz von 2mal 10^{-2} Adhaegon als Emulgator her. Diese weißliche Emulsion pflegt nach einer Weile zu sedimentieren, jedoch ist durch Schütteln stets wieder eine gleichmäßige Verteilung zu erzielen. Sie läßt sich gleichermaßen in physiologischer NaCl-Lösung als auch in Ringer herstellen. Von ihr ausgehend bereiteten wir die weiteren Verdünnungen in den gewünschten Medien.

Wir setzten unsere Versuche im allgemeinen mit 200 ccm Lösung an und beobachteten über einen Zeitraum von mindestens 24 Stunden. Zur Kontrolle lief ein Leerversuch mit. Zur Prüfung auf Reversibilität von Vergiftungserscheinungen wurde stets eine Kontrolle nach Eintreten der Intoxikation in frisches Wasser umgesetzt und weiter beobachtet. Es wurden auch Kontrollversuche angesetzt in Adhaegon* und

* Dieser Eiweißabbaustoff ist ein völlig indifferenter Stoff, der nach eigenen Erfahrungen an isolierten Organen keine wesentlichen Eigenwirkungen entfaltet, so daß er sich zur Verwendung als Emulgator bei biologischen Versuchen besonders eignet. Er ist ein Bestandteil des Hustenmittels „Expit". Über die physikalisch-chemischen Voraussetzungen seiner expektorationsfördernden Wirkung hat Liesegang (Klin. Wschr. **1939**, 1543) ausführlich berichtet. Wir verdanken der Firma Heyden A.G., Dresden, die Überlassung des Präparates.

Tierkohle, die dem Trübungseffekt der höchstkonzentrierten DDT-Lösung entsprach, um eine Schädigung der Tracheen oder Kiemen durch grobdisperse Stoffteilchen auszuschließen. Die folgende tabellarische Zusammenstellung vermittelt zunächst einen Überblick über die tödlichen Grenzkonzentrationen, die für verschiedene in Wasser lebensfähigen Tiere ermittelt werden konnten.

Tabelle 1.

Tierart	Konzentration	Tod nach etwa	Vergiftungsbild
Kleine Weißfische . .	10^{-5}	24 Std.	Seitenlage, irreversible Lähmung, eventuell Spättod
Kaulquappen	10^{-6}	24 Std.	wie an Fischen
Teichschnecken . . .	$3 \cdot 10^{-4}$	o. B.	praktisch ungiftig, Konzentration wird tagelang vertragen
Mückenlarven	10^{-5}	3 Tage	konvulsivische Zuckungen
Daphnien	$2 \cdot 10^{-4}$	o. B.	praktisch ungiftig
Eskulenten und Temporarien	$2 \cdot 10^{-5}$	27 Std.	aufsteigende Lähmung
Enchytraeen	$5 \cdot 10^{-4}$	o. B.	praktisch ungiftig
Regenwurm	10^{-3}	o. B.	„ „
Gelbrandkäfer* . . .	10^{-6}	48 Std.	Beginn der Vergiftung nach 4 Std. Gleichgewichtsstörung, Inkoordination der Ruderbewegung

Aus der tabellarischen Zusammenstellung kann als erstes abgelesen werden, daß *bei einigen Tierarten (Enchytraeen, Daphnien, Regenwürmer) praktisch überhaupt keine Vergiftung* erfolgt, auch nicht in hohen Konzentrationen bei längerer Wirkungsdauer. Bei den Tierarten, bei denen Vergiftung eintrat (Kaulquappen, Frösche, Fische, Mückenlarven), erfolgte diese etwa im gleichen Konzentrationsbereich. Eine *Spezifität der Wirksamkeit für Insekten war demnach nicht zu erkennen.* Die Wirkungsgeschwindigkeit war in diesen ermittelten Grenzkonzentrationen relativ langsam (24 Stunden bis 3 Tage). Es ist wohl auch wichtig, zu betonen, daß bei mehrtägiger Einwirkungszeit die Wirkung sich nicht mehr vertiefte, wie man es bei Giften annehmen müßte, bei denen langsame chemische Umsetzungen die Wirkung verursachen. Es handelt sich also auch bei diesem insektiziden Giftstoff um ein „konzentrationsgebundenes" Gift.

Das qualitative Wirkungsbild bei den verschiedenen Tierarten ließ in erster Linie *Störungen der Motilität und Gleichgewichtsreaktionen* erkennen. Eine Entscheidung, ob auch Muskellähmung und Kreislaufbeeinträchtigung eine Rolle spielen, kann zunächst nicht getroffen werden.

* Aus äußeren Gründen konnten lediglich einige orientierende Versuche gemacht werden.

Im einzelnen sei zu den Versuchsergebnissen folgendes gesagt: An Mückenlarven war die toxische bzw. tödliche Grenze nur unscharf festzulegen. Erst im Konzentrationsbereich 10^{-5}, der für kleine Fische unbedingt in 24 Stunden tödlich ist, und der sich auf größeren Wasserflächen sicherlich nicht längere Zeit aufrecht erhalten läßt, wurden die Larven alle abgetötet. Niedrigere Konzentrationen wurden 6—8 Tage beobachtet. Schon in Konzentration 10^{-8} traten Vergiftungserscheinungen in Form von konvulsivischen Verdrehungen ohne Fortbewegung, Ansammeln an Wasseroberfläche, Sistieren der Schwimm- und Tauchbewegungen auf. Wenn die Larven auch innerhalb von 8 Tagen nicht abgetötet wurden, so ist doch anzunehmen, daß sie so schwer geschädigt sind, daß vermutlich keine Metamorphose durchgeführt wird.

Bei Experimenten mit *Teichschnecken* (Planorbis), die sich als besonders widerstandsfähig gegen DDT erwiesen, wurde geprüft, ob diese Tiere die Lösung durch Adsorption oder fermentativ etwa entgiften. Es konnte gezeigt werden, daß eine Konzentration, die für Kaulquappen hochgradig giftig ist, von den Schnecken tagelang vertragen wurde, ohne daß sie ihre Toxizität nach dieser Zeit für Kaulquappen eingebüßt hätte. Auch Daphnien, Enchytraeen und Regenwürmer bewiesen auffällige Resistenz. Wenn das DDT als „typisches" Nervengift aufgefaßt wird mit elektiver Wirksamkeit gegenüber Insekten, so ist nicht einzusehen, weshalb das Nervensystem von Mollusken. Crustaceen und Würmern, das dem der Insekten phylogenetisch durchaus verwandt ist, nicht empfindlich sein soll. Bei den Mollusken wäre zu diskutieren, ob vielleicht die Oberfläche, eine weiche, drüsenreiche Haut, der wäßrigen Verteilung des DDT schlechte Resorptionsbedingungen bietet. Injektionsversuche an schalentragenden Schnecken sind schwer durchführbar, weil die Tiere die Flüssigkeit sofort nach Injektion durch Kontraktion wieder von sich geben. Es gelang in einigen Fällen, kleinen Schnecken etwa 1 mg einzuverleiben, ohne daß es zu einer Schädigung gekommen wäre. Bei Würmern und Crustaceen müßte die Aufnahme ausgezeichnet sein. Daß aus wäßrigen Emulsionen das DDT durch Chitinpanzer gut aufgenommen wird, bewiesen die Versuche an Gelbrandkäfern. Es *gibt also Organismen mit günstigen Aufnahmebedingungen, nämlich der Chitinpanzerung und dem Nervensystem der Arthropoden, die dem Gift gegenüber resistent sind.* Damit allein schon ließ sich die Behauptung etwas einschränken, daß dem DDT eine hohe Spezifität, ja elektive Wirkung auf Insekten zukomme. Die Unempfindlichkeit der Kompostwürmer, die sich den unterschiedlichsten Lebensbedingungen anpassen können, berechtigt die Frage aufzuwerfen, ob der Verbindung vielleicht zunächst eine Stoffwechselwirkung zukommt, die sich an den empfindlichen Elementen des Nervensystems sicherlich zuerst auswirken würde.

B. Toxizität bei Injektionsversuchen an Insekten, Fröschen und Warmblütern.

a) Versuche an Maikäfern. Bei der in der Literatur aufgestellten Vergleichung der Toxizität des DDT mit anderen Insektiziden, findet man immer wieder Angaben, die dem Stoff in jeder aufgenommenen Menge große Giftigkeit für Insekten zusprechen. Die pharmakologische Denkart sträubt sich verständlicherweise dagegen, diesen Begriff vorbehaltlos hinzunehmen. Es dürfte im allgemeinen sehr schwer sein, bei der Kleinheit der Versuchsobjekte Dosierungsverhältnisse konkret zu erfassen. Die in Teil A aufgeführten Toxizitätsbestimmungen in Schwimmversuchen haben ja auch schon erwiesen, daß Insekten und andere Kaltblüter keinen Unterschied in der Empfindlichkeit aufweisen. Es war daher notwendig, auch noch Vergiftungen bei Injektionsversuchen an größeren Insekten unter Bezugnahme auf das Gewicht zu erzeugen. Als Versuchsobjekte dienten uns Maikäfer von einem Gewicht über 1000 mg, denen die auf 1 kg Körpergewicht bezogene Dosis durch intraabdominelle Injektion appliziert wurde. Mit einer feinen Kanüle ließen sich Flüssigkeitsmengen bis zu 0,1 ccm durch Einstich zwischen die Intersegmentalhäute injizieren. Bei allen Versuchen wurden Kontrolltiere mit physiologischer NaCl-Lösung injiziert, die stets vertragen wurde.

Tabelle 2. *Toxizität am Maikäfer.*

Dosis in mg/kg	Anzahl der Tiere	Tödliche Wirkung
5	10	keine
10	15	keine
20	10	3
30	10	10

Vergiftung trat nach einigen Stunden ein, Tod am 3. Tag.

Als Versuchsergebnis ermittelten wir eine ziemlich genaue *tödliche Grenzdosis am Maikäfer, die zwischen 20 und 30 mg/kg liegt.* Dabei bestätigte sich die in der Literatur häufig anzutreffende Angabe, daß an Insekten eine einmal eingetretene Vergiftung unbedingt zum Tode führt (Läuger[1], Domenjoz[2]). Das Vergiftungsbild entsprach dem in der Literatur beschriebenen. Es traten Koordinationsstörungen auf, die die Käfer am Laufen hinderte. Die Beine wurden „zwecklos" im Hüftgelenk zirkumduziert. Besonders das kaudalwärts gelegene Extremitätenpaar war von Streckkrämpfen befallen. Flugversuche wurden nicht mehr unternommen.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß auch bei Insekten die *Wirkung in deutlicher Abhängigkeit von der aufgenommenen Giftmenge verläuft*, d. h., daß also auch bei dieser Tierart die Aufnahme einer Mindestmenge von Gift erforderlich ist. Diese Menge ist im übrigen keineswegs so klein, wie in den üblichen Darstellungen immer angegeben wird. Sie ist naturgemäß klein, weil das Körpergewicht solcher Insekten gering ist.

so ist es verständlich, daß Fliegen durch Spuren getötet werden können, die bei einer kurzen Berührung eines DDT-Filmes haften bleiben und aufgenommen werden.

b) Versuche an Fröschen. Wie bei den Schwimmversuchen war auch hier eine ganz genaue Bestimmung der tödlichen Dosis nicht möglich, weil es immer wieder vorkam, daß ein Frosch mit den schwersten Vergiftungssymptomen sich langsam völlig erholte. In dieser Beziehung besteht ein Unterschied zu dem Verhalten der Insekten, bei denen ein „Alles-oder-Nichts-Gesetz" vorzuliegen scheint. Die letale Dosis liegt für Temporarien und Eskulenten etwa bei 50 mg/kg. Der toxische Bereich beginnt bei 20 mg/kg. Diese Dosis entspricht der am Maikäfer gefundenen Letaldosis von 30 mg/kg. Im Laufe einer Vergiftung traten aufsteigende Lähmungen, tetanische Starre, Reflexlosigkeit auf. Nach Gaben über 50 mg/kg konnten häufig tonisch-klonische Krämpfe beobachtet werden. Am reflexlosen Frosch waren Herzschlag und Atmung nachzuweisen. Der freigelegte Nerv und Muskel eines gelähmten Frosches sprachen auf elektrische Reize an. Bei Sektionen war kein besonderer Befund zu erheben, gelegentlich konnte diastolischer Herzstillstand beobachtet werden.

Die Wirkung des DDT auf nervöse Elemente beschränkt sich nicht auf höhere Abschnitte des Zentralnervensystems. Nach Ausschalten des Großhirns konnte am dezerebrierten und am dekapitierten Frosch das gleiche Vergiftungsbild bei subkutaner Injektion ausgelöst werden wie am unverletzten Tier.

Im Anschluß an diese Toxizitätsbestimmungen wurden auch einige Versuche gemacht, die sog. Nervenwanderung des DDT am Frosch nachzuweisen. Zu diesem Zweck benutzten wir den Claude-Bernard-Versuch, wie er für den Nachweis des Kurarinangriffspunktes üblich ist. Es wurde nach Freilegung des N. ischiadicus der einen Extremität um diese gesamte Extremität unter Schonung des Nervenstammes eine Ligatur gelegt. Sodann wurde die 3—5fache tödliche Dosis in das abgebundene Bein injiziert. Bei dieser Versuchsanordnung wurden keine Vergiftungen beobachtet. Es konnte also erwiesen werden, daß das *Gift nicht durch Nervenwanderung zum Zentralnervensystem gelangt.*

Die vorstehenden quantitativen Ergebnisse mögen noch zu einer rechnerischen Überlegung verwendet werden. Es kann nämlich die Frage erhoben werden, welche Mengen von DDT aus der wirksamen Grenzkonzentration aufgenommen werden müssen. Wenn der Frosch 50 mg/kg für die tödliche Wirkung benötigt, so wird ein 50-g-Frosch 2,5 mg aufnehmen müssen. Im Schwimmversuch wirkte Konzentration $2 \cdot 10^{-5}$ bei 200 ccm Lösung tödlich. Von der darin enthaltenen Gesamtmenge von 4 mg müßte durch das Versuchstier etwa 2,5 mg gebunden

und aufgenommen sein. Die Substanz muß also eine hohe Haftfähigkeit besitzen, die eine solche Anreicherung ermöglicht.

c) Versuche an Ratten bei intraperitonealer und oraler Zufuhr. Oral wurde die Substanz mit Schlundsonde bis zu 1000 mg/kg in wäßriger Emulsion zugeführt, ohne daß irgendwelche pathologischen Erscheinungen auftraten. Nach intraperitonealer Gabe von Mengen über 100 mg/kg war der Ausgang der Vergiftung letal*. Die tödliche Dosis liegt bei dieser Applikation etwa bei 200 mg/kg. Niedrigere Dosen werden trotz Vergiftungserscheinungen vertragen. Die Vergiftung verläuft folgendermaßen: Seitenlage mit reflektorischen Krämpfen, Dyspnoe, Dauertremor, schließlich oberflächliche Atmung, schlaffe Lähmungen, Tod. Bei der Sektion findet sich lediglich Reizexsudat in der Bauchhöhle und leichte Injektion des Mesenteriums und der Därme.

Entsprechend der höheren Organisation des Zentralnervensystems müßten die Warmblüter stärker auf das Gift ansprechen. Unseren Versuchen ist zu entnehmen, daß *für Warmblüter eine geringere Toxizität besteht als für den Kaltblüter*. Dieses unterschiedliche Verhalten findet vielleicht seine Erklärung darin, daß sich beim Warmblüter besondere Eliminationsvorgänge, insbesondere chemischer Abbau und Entgiftungsprozeß am Molekül, abspielen. Darüber können noch keine Ausführungen gemacht werden.

Besonders bemerkenswert scheint die Tatsache, daß bei Gabe *per os das DDT praktisch kaum wirksam ist*. Hier liegt naturgemäß der Gedanke nahe, daß die Substanz überhaupt nicht aufgenommen wird. Diese Annahme erscheint jedoch etwas fragwürdig, da der Stoff in gewissem Ausmaß wasserlöslich ist und auch im Schwimmversuch zu einer starken Anreicherung im Organismus neigt. Immerhin könnte hier eine wichtige Parallele zu dem verwandten Tetrachlorkohlenstoff vorliegen. Diese Verbindung wird bekanntlich als Wurmmittel innerlich in Gaben von 3—4 g gut vertragen, kann aber zu Vergiftungen Anlaß geben, wenn seine Resorptionsbedingungen durch gleichzeitigen Genuß von Alkohol oder Fetten verbessert wird.

Bei unseren Versuchen verabreichten wir das DDT ohne Alkoholzusatz in Verreibungen mit Gummi arabicum per os.

C. Organ- und Fermentwirkung.

a) Zellschädigung und örtliche Wirkung.

Einen weiteren Beitrag zur Klärung des Angriffspunktes der Giftwirkung sollten Versuche über Einwirkung an Organen bringen.

* In der Literatur (Emmel und Krüpe[9]) findet sich die Angabe, daß nur Gaben per os in öliger Lösung Vergiftungen erzeugen. Unsere Versuchsergebnisse bestätigen diesen Befund nicht.

Zunächst prüften wir die allgemeine zellschädigende Wirkung an Blutkörperchen in vitro. Im Hämolyseversuch löste DDT bis zur Konzentration 1:600 in 6 Stunden keine Hämolyse aus. Farbänderungen oder Ausfällungen wurden ebenfalls nicht beobachtet.

Danach wurden Versuche über die örtliche Reizwirkung durch Instillation von DDT-Lösung in den Konjunktivalsack des Kaninchenauges gemacht. Bis zur Konzentration $5 \cdot 10^{-5}$ konnte mit der Lösung keine akute oder verzögert einsetzende Reizung erzeugt werden. Auf der intakten menschlichen Haut und Schleimhaut verursachten die geprüften Konzentrationen einschließlich der gesättigten alkoholischen Lösung keine Reizwirkung. Geschmacksgrenzen ließen sich nur ungenau bestimmen. Schwache Konzentrationen in wäßriger Lösung rufen keinen Geschmackseffekt hervor, höhere Konzentrationen werden geschmacklich vom Emulgator überlagert. Die gesättigte alkoholische Lösung hat einen schwachen aromatischen Geschmack, der von der Geruchsempfindung bestimmt ist. Einige Versuchspersonen geben an, nach Einwirken der alkoholischen Lösung ein leichtes Taubheitsgefühl an der Zungenspitze empfunden zu haben, das nur kurze Zeit anhielt. Nachträgliche Reizerscheinungen wurden nicht beobachtet.

An 3 Versuchspersonen wurden sterile DDT-Lösungen intrakutan injiziert. Es wurden von den Konzentrationen 10^{-6}, $3 \cdot 10^{-6}$, 10^{-5}, $3 \cdot 10^{-5}$ und 10^{-4} je 0,1 ccm gegeben. Zusätzliche wurden als Kontrolle eine Quaddel mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gesetzt. Lediglich die Konzentration 10^{-4} löste nach der Injektion einen kurzen mäßigen Schmerzeffekt aus. Es kam in keinem der Versuche zu irgend einer Reaktion, die auf besondere Reizwirkung durch DDT hätte schließen lassen.

Dem DDT ist *also keine elektive Wirkung auf sensible nervöse Elemente* zuzusprechen, wie sie nach Heubner[7] für die typischen Nervengifte charakteristisch ist. Es hat auch wahrscheinlich keine spezifisch zellschädigende Wirksamkeit.

b) Kreislaufwirkung.

1. Gefäßwirksamkeit: Im Laewen-Trendelenburgschen Versuch wurde an durchströmten hinteren Extremitäten des Frosches nach Einstellung auf Adrenalin an gut empfindlichen Präparaten die Gefäßwirksamkeit geprüft. Die Konzentration 10^{-6} beeinflußte bei Dauerperfusion im allgemeinen die Adrenalinempfindlichkeit nicht, doch können unter DDT-Durchfluß bei dieser Konzentration periodische Kontraktionen der Gefäße auftreten, erkennbar an Verlangsamung der Durchflußgeschwindigkeit, die eine genaue Prüfung auf Adrenalinwirksamkeit schwierig gestalten. Außer der Auslösung von periodischen Veränderungen der Durchlaufgeschwindigkeit hatte die Konzentration

10^{-6} keine Eigenwirkung. Unter Durchfluß der Konzentration 10^{-5} traten an den Präparaten wieder die schon beschriebenen periodischen Schwankungen auf. An einem der Kontrollpräparate ließen sich diese auftretenden Veränderungen durch Druckausgleich aufheben. Nach 120 Min. Perfusion behalten jedoch die Präparate bei Prüfung auf Adrenalinwirksamkeit die Gefäßverengerung bis zu einem gewissen Grade bei. Unter Ringerdurchfluß blieb diese Erscheinung bestehen.

Bei einer Dauerperfusion mit der Konzentration $3 \cdot 10^{-5}$ konnten Spontankontraktionen unter Durchfluß der Lösung nicht mit Sicherheit festgestellt werden. 60 Min. nach Dauerdurchströmung war eine Abnahme der Durchflußgeschwindigkeit um etwa 30% festzustellen. Die Adrenalinempfindlichkeit des vorher ausreichend empfindlichen Präparates war um eine ganze Potenz gesunken. Die Kontraktion nach Adrenalingabe ging nicht völlig zurück. Der Effekt war unter Ringerdurchfluß $1^1/_2$ Stunden lang nicht reversibel. Die Adrenalinempfindlichkeit ging nicht wieder auf den Ausgangswert zurück.

Bei ständiger Perfusion mit der Konzentration 10^{-4} über 60 Min. kam es zu Spontankontraktionen. Es traten spontan Verengerungen der Gefäße auf erkennbar an einer Herabsetzung der Durchflußgeschwindigkeit bis über 100%. Dieser Effekt war unter Ringerdurchfluß nicht reversibel. Eine neuerliche Austestung der Adrenalinempfindlichkeit nach Dauerperfusion mit DDT war praktisch nicht möglich wegen der Spontankontraktion. Insgesamt war die Durchflußgeschwindigkeit in 60 Min. um 300% herabgemindert.

2. *Wirkung am isolierten Herzen.* Die Versuche wurden am isolierten Herzen vom Grasfrosch nach Straub durchgeführt bei 1-ccm Kanülenfüllung. Die zu prüfende Giftkonzentration wurde in der gleichen Volumenmenge ausgewechselt. Bei diesen Versuchen wurde gleichzeitig die Frage geprüft, ob etwa eine hemmende Wirkung auf die Vagusempfindlichkeit (gegen Doryl) auftritt bzw. ob die Azetylcholinwirksamkeit verstärkt wird, was auf eine Beeinflussung der Esterase des Herzmuskels schließen ließe.

Bei den Versuchen ergaben sich gewisse jahreszeitliche Unterschiede. In den Wintermonaten, im Dezember bei niedriger Raumtemperatur, sprachen die Präparate erst auf DDT-Konzentrationen von $3 \cdot 10^{-4}$ an. Es ergab sich dabei eine Verminderung in der Kontraktionshöhe unter gleichzeitigem Anstieg der Fußpunkte und eventuell Auftreten von Irregularitäten. Die Wirkung war auswaschbar. Bei diesen hohen DDT-Konzentrationen war der Alkoholgehalt etwa 0,8%, so daß ein Teil dieser Wirkung schon der Nebenwirkung des Alkohols zugeschrieben werden mußte. Eine Hemmung der Dorylwirksamkeit trat bis zu dieser Konzentration nicht auf. Die Wirkung erschien eher etwas verstärkt, was sich aber aus einer Addition von Teilschädigungen

erklären läßt. Konzentrationen von DDT, die selbst keine Wirkung zeigten, beeinflußten auch die Dorylwirkung nicht.

Bei Versuchen im Juni unter Zimmertemperatur von mindestens 22° C war die Empfindlichkeit ungleich größer. Eine leichte Abnahme der Hubhöhe tritt schon bei Konzentration 10^{-7}—10^{-6} auf und ist bei 10^{-5} ausgesprochen. Bei diesen Konzentrationen spielten Alkoholnebenwirkungen nicht mit. Das Wirkungsbild war das gleiche. Die Erscheinung ist bei Auswaschen mit Ringer gut reversibel. Die Versuche wurden an Herzen ausgeführt, die vorher auf Azetylcholinschwellendosis eingestellt waren. Nach Behandlung mit DDT und unter DDT-Einwirkung blieb die Azetylcholinempfindlichkeit unbeeinflußt. Daraus kann mit gewisser Wahrscheinlichkeit geschlossen werden, daß dem *DDT keine spezifische Hemmung der Cholinesterase* zugesprochen werden kann, die an Verstärkung der Azetylcholinwirkung (Verschiebung des Schwellenwertes) deutlich geworden wäre oder in einer Verlängerung der Vagushemmung ihren Ausdruck gefunden hätte.

Als Nebenbeobachtung sei erwähnt, daß im längeren Versuchsverlauf ein Herz, das nacheinander mit steigenden Konzentrationen DDT behandelt worden ist, gegen Steigerung der Dosen merklich unempfindlicher wird, ohne daß gleichzeitig seine Empfindlichkeit gegen Azetylcholin sich verändert hätte. Nach einer längeren Erholungsphase unter Ringer und bei Sauerstoffzufuhr wird das Herz wieder für die hohen Konzentrationen ansprechbar.

c) Wirkung auf glatte Muskulatur des Regenwurmes.

Am isolierten ganglienfreien und am ganglienhaltigen Präparat des Regenwurmes löst DDT erst im Lösungsverhältnis $5 \cdot 10^{-4}$ eine reversible Lähmung aus, die jedoch nicht als DDT-Wirkung angesehen werden kann, da bei dieser Lösung noch 10^{-2} Alkohol enthalten ist. Kontrollversuche mit dieser Alkoholkonzentration ergaben das gleiche Wirkungsbild.

Injektionsversuche am Regenwurm mit Dosen bis 0,4 mg je Wurm blieben ohne Wirkung.

d) Wirkung auf quergestreifte Muskulatur.

Am isolierten Froschrectus trat nach Zusatz von DDT bis zu Konzentration $5 \cdot 10^{-4}$ keine Kontrakturerscheinung auf und keine fibrilläre Zuckung. Es wurde insbesondere geprüft, ob eine Sensibilisierung für den Kaliumreiz erfolgt, wie sie BACQ[10] zur Erklärung bestimmter Muskelstarren und des Veratrineffektes beschrieben hat. Die Versuche wurden dabei so vorgenommen, daß am Muskel durch Zusatz von 0,1—0,2 einer 10%igen KCl-Lösung auf 10 ccm Ringerbad eine Kontrakturwirkung geprüft wurde und die Erholung bei Auswaschung

mit Ringer. Nach Einstellung des Präparates wurde die zu prüfende DDT-Menge zugesetzt und nach weiteren 5 Min. der Kaliumreiz erneut geprüft. In den Konzentrationen $5 \cdot 10^{-4}$ trat keine Sensibilisierung für die Kaliumwirkung und keine Verzögerung der Erholung auf.

Dieser sog. BACQ-*Effekt* entsteht durch Beeinflussung der intermediären Fermentreaktionen im Kohlehydrathaushalt des Muskels, wie sie LUNDSGAARD [11] für halogenierte Essigsäuren beschrieben hat. Gewisse Beziehungen erschienen hier möglich, weil DDT auch den Charakter eines Halogenkohlenwasserstoffes besitzt, und weil z. B. auch Chloroform Muskelstarren auslösen kann. Die vorliegenden Ergebnisse sprechen also gegen einen Angriffspunkt des DDT im Sinne der Halogenessigsäuren.

e) Wirkung auf Fermentsysteme in vitro.

Da die Wahrscheinlichkeit besteht, daß DDT seine Wirkung über bestimmte Fermentsysteme ausübt, haben wir die Absicht, diese Frage systematisch weiterhin zu studieren und dabei auch Besonderheiten des Stoffwechsels bei Insekten zu berücksichtigen. Eine Hemmung der Cholinesterase und ein Eingreifen in den Stoffwechsel des Muskels, wie ihn BACQ für Halogenessigsäuren beschreibt, konnten wir für DDT ausschließen. Im folgenden sollen einige orientierende Versuche an Fermentsystemen beschrieben werden.

1. Reduktion der aromatischen Nitrogruppe (LIPSCHITZ [12]). Die Reduktion der aromatischen Nitrogruppe durch lebendes Gewebe läßt sich als Indikator von Teilvorgängen der Atmung und Gärung verwerten. Wir versetzten je 2 Proben von frischer zerriebener Froschmuskulatur mit Lösung von $3 \cdot 10^{-5}$ und 10^{-4} DDT in NaCl-Lösung unter Zusatz von 0,8% o-Dinitrobenzol. Als Vergleich dienten zwei Kontrollen ohne DDT-Zusatz. Im Verlauf der Beobachtung trat in allen Proben die typische Gelbfärbung des Phenylhydroxylamins auf, das aus o-Dinitrobenzol bei der Reduktion durch lebende Zellen entsteht. Ein Farbunterschied zwischen den Proben war nicht zu bemerken. Auch im Ätherauszug zur Anreicherung des Farbstoffes war kein Unterschied der Farbintensität bei den verschiedenen Lösungen festzustellen. Aus dem Ergebnis dieses lediglich orientierenden Versuches kann gefolgert werden , daß das DDT in ziemlich hohen Dosen die Reduktionskraft des Gewebes nicht so einschränkt, daß die Reduktion des o-Dinitrobenzols zu Phenylhydroxylamin verhindert wäre.

2. Hemmung der Katalase. Reihenversuche an Blutlösungen in vitro ergaben, daß DDT in Konzentrationen bis $5 \cdot 10^{-4}$ keine Katalasehemmung macht. Bei der Probe $5 \cdot 10^{-4}$ war die Sauerstoffentwicklung nach Zugabe von H_2O_2 im Vergleich zu den anderen Proben etwas abgeschwächt. Da diese Konzentration 10^{-2} Emulgator enthält, kann

angenommen werden, daß eine gewisse Adsorptivbindung der Katalase an die emulgierten Teilchen stattgefunden hat. Dem DDT ist also keine spezifische Katalasehemmung eigentümlich.

D. Antidote als mögliche chemische Angriffspunkte.

Um einen Hinweis auf den möglichen chemischen Angriffspunkt des DDT zu bekommen, prüften wir in größeren Reihenversuchen antagonistische Wirkungen körpereigener oder körperfremder Stoffe auf die DDT-Lösung.

Durch das Angebot verschiedener chemischer Gruppen in aktiver Form, z. B. Aminogruppe, Karboxylgruppe, Ketogruppe, Aldehydgruppe, Sulfhydrilgruppe, aliphatische und phenolische OH-Gruppen versuchten wir, das in den Tierkörper eindringende DDT-Molekül abzufangen bzw. dem Tierorganismus chemische Gruppen in größerem Ausmaß zur Entgiftung zur Verfügung zu stellen. Bei solchen Versuchen an biologischen Effekten muß man sich zwar stets vergegenwärtigen, daß chemische und physikalische Zwischenreaktionen auftreten können, die sich der direkten Kontrolle entziehen.

Nach Versuchen von LABES und BERGSTERMANN[13] bilden sich in wäßriger Lösung zwischen Phenolderivaten und Heterozyklen Reaktionsprodukte, deren Löslichkeitskonstante sich in Abhängigkeit von der Einführung bestimmter hydrophiler oder hydrophober Gruppen verändert. Die chemisch konstitutiven Gesetze, nach denen diese Reaktionen vor sich gehen, erinnern weitgehend an die Bindungsgesetze verschiedener chemotherapeutisch wirksamer Körper an Eiweiß.

Diese Versuche von LABES, die zunächst vom rein physikalisch-chemischen Gesichtspunkt interessieren, erlauben Schlüsse auf die möglichen Reaktionen körperfremder Stoffe im Organismus bei Entgiftung und Ausscheidung. Sie zeigen weiterhin die Methode, nach der die Ergebnisse biologischer Prüfungen in der von uns beschriebenen Weise genau qualitativ und quantitativ ausgewertet werden könnten.

In jedem Fall, in dem bei Zusatz eines Antidots zur Giftlösung eine Verstärkung oder Minderung der Toxizität, Verschiebungen des Zeitwertes, Veränderungen der Vergiftungssymptome auftreten, ist dies ein Hinweis darauf, daß sich Prozesse abgespielt haben, die den untersuchten Stoff in seinem chemischen oder physikalischen Zustand verändert haben. Aus dieser Veränderung können Anhaltspunkte für die Reaktionsmöglichkeiten im Organismus als Ursache der Giftwirkung gewonnen werden, die weiteren Untersuchungen richtungweisend wären.

Aus der Vorbemerkung zu Teil A läßt sich entnehmen, warum solche Versuche besonders gut an in Wasser lebenden Tieren gemacht werden können. Wir versuchten, durch Zugabe verschiedener Substanzen an der Grenze ihrer eigenen Toxizität, die wir vorher bestimmten, zu der in

24 Stunden tödlichen DDT-Konzentration, eine Hemmung oder Aufhebung der Giftwirkung zu erzielen.

In der 1. Gruppe prüften wir Serumeiweiß in Form von Boviserin und Pepton, ein Eiweißabbauprodukt. Als Substrat für Fermente und als Baustein der Zellmembranen kann Eiweiß bei Giftwirkungen auf Membranen und den Stoffwechsel ein entscheidender Angriffspunkt sein. Auf Grund der Eiweißstruktur sind zahlreiche Möglichkeiten der Bindungen an den verschiedenen Molekülgruppen denkbar. In Erweiterung der Versuche mit vollem Serumeiweiß und Pepton wurden verschiedene Aminosäuren zugesetzt. Ihre Fähigkeit zu Kupplungsreaktionen gestattet ihnen ein vielseitiges chemisches Verhalten. Es wurden die aliphatischen Säuren Alanin und Glykokoll geprüft, dann die aromatische Verbindung Tyrosin, schließlich die Heterozyklen Tryptophan und Histidin.

Um noch einen wichtigen körpereigenen Stoff zu berücksichtigen, machten wir auch Versuche mit Zusatz von Glukose. Malonsäure wurde ebenfalls geprüft, ihre nahe Verwandtschaft zur Bernsteinsäure und ihr Vorkommen im intermediären Stoffwechsel, in dem ja bekanntlich Stoffwechselprodukte der verschiedensten Art als Wasserstoffrezeptoren auftreten können, berechtigte ihre Prüfung als mögliches Antidot.

Hexamethylentetramin kann im biologischen Bereich Formaldehyd abspalten und ist wegen seiner sonstigen entgiftenden Eigenschaften von Interesse.

Die bekannte entgiftende Funktion des Schwefels und besonders aktiver SH-Gruppen sollte durch Anreicherung von Cysthion oder Thioharnstoff zur Auswirkung kommen. Eine Hemmung der DDT-Wirkung durch Zusatz von beispielsweise Cysthion, hätte einen Hinweis auf Blockierung physiologischer Oxydationen gegeben, bei denen aktive Sulfhydrilsysteme eine wichtige Rolle spielen, insbesondere haben sie in hohem Grade Entgiftungsfunktionen im Zellstoffwechsel (Wels [14]).

Ferner interessierten Pyridinabkömmlinge, die die Wirkungsgruppen der Co-Fermente der Dehydrasen bilden. Es standen uns Pyridin und Nikotinsäure sowie i-Nikotinsäure zur Verfügung.

Vom rein chemischen Gesichtspunkt aus ist bei der Strukturverwandtschaft des DDT mit den Sulfonamiden auch der Gedanke an eine Verdrängung biologischer Wirkstoffe aus Fermentsystemen in gewissem Grade berechtigt.

Die weiterhin als Antidot geprüfte Sulfanilsäure wurde wegen ihrer Konstitution als Grundkörper der Sulfonamide mit in den Bereich der Versuche gezogen. Schließlich prüften wir noch einen weiteren Phenolkörper, das Phenylendiamin, das ebenfalls im Stoffwechsel der Oxydasen auftreten kann.

Aus Tabelle 3 und 4 kann als Ergebnis der geprüften Antidotwirkung entnommen werden, daß mit diesen Stoffen *keine Verschiebung der Toxizität* aus einer Abschwächung der wirksamen Grenzkonzentration oder auch nur aus einer Veränderung der Wirkungsgeschwindigkeit festgestellt werden konnte.

Der negative Ausfall dieser Versuche könnte in dem Sinne gedeutet werden, daß noch nicht die spezifischen chemischen Verankerungsmöglichkeiten in den angebotenen Antidoten gefunden wurden. Es besteht aber wohl auch ein gewisses Recht zu der Annahme, daß das DDT vielleicht gar nicht im Sinne einer chemischen Fixierung, sondern vielleicht durch Blockierung von Membranen und Strukturen auf Grund einer besonderen Verteilung oder Adsorptionsverdrängung wirksam wird. Es würde demgemäß etwa wie die Narkotika als Konzentrationsgift mit reversibler Bindung wirksam werden. Für diese Auffassung spricht die typische Konzentrationsgeschwindigkeit der Wirkung bei zeitlicher Beobachtung. Die Reversibilität konnte jedoch nur am isolierten Organ (Herz), aber schon nicht mehr am isolierten Gefäß und vor allem nicht an Schwimmversuchen an Fischen und Kaulquappen nachgewiesen werden.

Tabelle 3. *Antidotwirkung an Fischen. DDT-Konzentration in allen Versuchen 10^{-5}.*

Antidot	Konzentration	Eigenwirkung	Beeinflussung der DDT-Wirkung
Thioharnstoff	10^{-3}	keine	keine
	$3 \cdot 10^{-3}$	„	„
Cysthion	10^{-5}	„	„
	$5 \cdot 10^{-5}$	„	„
Boviserin	10^{-2}	„	„
	$2 \cdot 10^{-2}$	„	„
Urotropin	10^{-2}	„	„
Phenylendiamin	$2 \cdot 10^{-5}$	Erregung nach 22 Std. +	„
	10^{-4}	desgl.	„

E. Vergleich mit anderen Insektiziden und „Nervengiften".

Stellt man das DDT in eine Reihe mit einigen anderen Substanzen, die auch als Insektizide Verwendung finden oder die wie einige Insektizide als „typische" Nervengifte bezeichnet werden, so können gewisse vergleichende Überlegungen auf Grund quantitativer Prüfungen ihrer Wirkungsweise angestellt werden. Wir haben einige Substanzen in anderem Zusammenhang geprüft (unveröffentlicht) und geben davon hier in einer tabellarischen Zusammenstellung auszugsweise Kenntnis.

Berücksichtigung finden bei unserer Darstellung die typischen „Nervengifte" Piperin und Capsaicin neben Senföl, welches nicht als reines Nervengift zu betrachten ist. Praktisch findet es in dem Präparat

Tabelle 4. *Antidotwirkung an Kaulquappen. DDT-Konzentration 10^{-6}.*

Antidot	Konzentration	Eigenwirkung	Beeinflussung der DDT-Wirkung
Boviserin	$2 \cdot 10^{-2}$	keine	keine
	$4 \cdot 10^{-2}$	,,	,,
Pepton	1:400	,,	,,
Alanin	10^{-4}	,,	,,
Glykokoll	10^{-4}	,,	,,
Tyrosin	$^1/_{20}$ ges.	,,	,,
Tryptophan	10^{-4}	,,	,,
Histidin	10^{-4}	,,	,,
Glukose	10^{-2}	,,	,,
Malonsäure	10^{-4}	,,	,,
Urotropin	10^{-2}	,,	,,
Cysthion	10^{-4}	,,	,,
	$3 \cdot 10^{-4}$	,,	,,
Thioharnstoff	$3 \cdot 10^{-3}$	,,	,,
Nikotinsäure	10^{-4}	,,	,,
i-Nikotinsäure	10^{-4}	,,	,,
Sulfanilsäure	10^{-4}	,,	,,
Pyridin	10^{-5}	,,	,,
Nukleinsäure*	10^{-3}	,,	,,

„Illo“ als Mittel für Läusebekämpfung Verwendung. Ferner untersuchten wir das dem Senföl isomere Benzylrhodanid, das ebenfalls für die Schädlingsbekämpfung Verwendung findet.

Die vergleichende Prüfung, deren Befunde in der Tabelle 5 zusammengestellt sind, erstreckte sich auf Ermittlung von Geschmacksgrenzen, Reizgrenzen, tödlichen Konzentrationen an verschiedenen Tierarten im Schwimmversuch und bei Injektionen, sowie schließlich von Wirkungen am isolierten Herzen und an Gefäßen.

Die synthetischen Wirkstoffe des Pfeffers und Paprikas, *Piperin* und *Capsaicin*, sind als typische Nervengifte nach Heubner aufzufassen. Ihr Angriffspunkt liegt fast nur am peripheren Nerven, speziell an den Wärmerezeptoren in Haut und Schleimhaut. Konzentrationen im Bereich 10^{-6}, 10^{-8} rufen noch Reizung der Zunge und der menschlichen Kornea hervor. Im Gegensatz zu diesem Vermögen, in kleinsten Mengen Reizwirkung zu entfalten, steht ihr Verhalten in toxikologischer Beziehung, denn sie sind von äußerst geringer Giftigkeit und entfalten meist nur leichte reversible Schädigung. Auch fehlt ihnen jede Organspezifität.

Das *Benzylrhodanid* hat auch eine relativ große Wirksamkeit auf sensible Organe. Gleich den Pfefferstoffen hat es die Eigentümlichkeit, auf Haut und Schleimhaut Reizungen der Wärmerezeptoren hervorzurufen ohne erkennbare Mitbeteiligung der Kapillaren. Seine

* Wir zogen die für den Kernaufbau der Zelle wichtige Nukleinsäure nachträglich in den Kreis unserer Untersuchungen.

Tabelle 5. *Letale Dosen und toxische Grenzen einiger insektizider Stoffe und „Nervengifte".*

	Capsaicin und Piperin	Senföl	Benzylrhodanid	DDT
Geschmack	$10^{-6}/10^{-8}$	10^{-6}	1:600000	ungenau
Kornea	Mensch 10^{-6}	Kaninchen		Kaninchen
	Katze $2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$
Örtlicher Reiz	Brennen, Wärme	Brennen, Entzündung, Rötung	nur Brennen	keiner
Reflexfrosch	$3 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-4}	—
Daphnien	—	10^{-6}	—	keine Wirkung
Enchytraeen	—	—	—	„ „
Mückenlarven	—	—	—	10^{-5}
Kaulquappen	1:80000 reversibel	$2 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	10^{-6}
Fische	—	10^{-6}	—	10^{-5}
Frösche:				
Schwimmversuch	$5 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-4}$ reversibel	$2 \cdot 10^{-5}$
subkutan	—	200 mg/kg	200 mg/kg	50 mg/kg
Ratten: subkutan	200 mg/kg	200 mg/kg	150 mg/kg	100 mg/kg
per os	keine Wirkung	—	150 mg/kg	keine Wirkung
Isoliertes Froschherz	$5 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	1:40000	10^{-6}
Gefäßpräparat	keine Wirkung	10^{-5} irreversibel	keine Wirkung	10^{-5}

Wirkung auf den Stoffwechsel [Rhodanide haben fast alle antipyretische Wirkungen (TAUBMANN [15])] und auf das Zentralnervensystem erklären wahrscheinlich seine größere Giftigkeit für den Warmblüter. Es gehört zu den Krampfgiften mit besonderem Angriffspunkt am Atemzentrum. Im allgemeinen lösen die Rhodanide Erregung des Atemzentrums auch am morphinbehandelten Tier aus (TAUBMANN [15]). Es sei dahingestellt, ob man wegen seiner Struktur und chemischen Gruppenverwandtschaft, — Benzolkern, Rhodanion mit Beziehung zu Halogenen, — physikalischer Eigenschaften, z. B. der Lipoidlöslichkeit, und dem biologischen Angriffspunkt am Hirnstamm eine Brücke zum DDT schlagen darf. Auch hier besteht keine Spezifität für eine bestimmte Tierart, lediglich ein Unterschied in der Toxizität. Wie weit das Benzylrhodanid seine Giftigkeit über Stoffwechselwirkungen entfaltet, kann noch nicht beurteilt werden.

Einen weiteren Platz in unseren Untersuchungen nimmt das *Senföl* ein, das chemisch konstitutionell sich im Verwandtschaftsbereich des Rhodanid befindet. Ihm kommt die umfassendste toxische Wirksamkeit nach unseren Ergebnissen zu. In schwachen Konzentrationen wirkt es auf sensible und sensorische Elemente. Es kann ausgesprochen entzündungserregende, zellschädigende Wirksamkeit entfalten und ist gleichmäßig toxisch für Warm- und Kaltblüter. Seine zellschädigenden Eigenschaften erlauben ihm auch weitgehende Organwirksamkeit

besonders am Zentralnervensystem und an Gefäßen. Ratten gehen nach Senfölinjektionen subkutan an hämorrhagischer Entzündung des Darmes mit Darmatonie zugrunde, ohne daß es zu Erregungserscheinungen und Krämpfen kommt. An Fröschen führt die Senfölvergiftung mit gleichen Dosen zum Tetanus.

Bei der Vergleichung der Wirksamkeit verdient eine besondere Betrachtung das Verhalten der Herzwirksamkeit, weil es möglich erschien, die spezifische Toxizität vielleicht neben der Nervenwirkung auch über dieses lebenswichtige Organ zu erklären. Es muß festgestellt werden, daß allein das Benzylrhodanid und DDT eine wesentliche Wirkung am Herzen besitzen, während diese bei den Pfefferstoffen schon geringer ist. Das Senföl übt nur in sehr starken Konzentrationen eine Schädigung aus.

Im Vergleich zu diesen Stoffen besitzt das DDT eine gewisse Einförmigkeit der Wirkungsweise. Man kann die Berechtigung einer Sonderstellung als spezifisches Insektengift, die dem DDT zugewiesen wird, anzweifeln. Sein Verhalten als Kontaktgift, das zunächst lediglich auf physikalischen Eigenschaften beruht, ist durch Besonderheit der Aufnahmemöglichkeiten bei Insekten. bedingt. Das auffallende Vergiftungsbild bei Insekten und deren isolierten Gliedmaßen kommt durch die besondere Organisation des Nervensystems bei Arthropoden zustande, für die in gewissem Ausmaß ein subepidermales Synzytium aus multipolaren Ganglienzellen angenommen wird, das eine Mittlerfunktion zwischen übergeordneten nervösen Elementen und dem Erfolgsorgan hat, und dem eine gewisse Autonomie zugesprochen wird (Tonner, zit. bei Domenjoz [2]).

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

Die in der Literatur allgemein verbreitete Ansicht, daß dem DDT eine besondere Spezifität gegenüber den Insekten zukomme, bestätigte sich nach unseren Versuchen nicht.

Auch für Insekten ließen sich genaue Dosierungsverhältnisse in Beziehung zum Körpergewicht erfassen. Die Toxizität des DDT liegt nach unseren quantitativen Bestimmungen für verschiedene Kaltblüter, im Wasser lebende Tiere und Insekten im gleichen Bereich. Nur einige Anneliden, Schnecken und Krustazeen zeigten sich für DDT unempfindlich. Beim Warmblüter liegen die toxischen Dosen etwas höher als beim Kaltblüter.

Die Hypothese einer Nervenwanderung konnte nicht bestätigt werden.

Versuche zur Aufklärung über Verankerung an bestimmten chemischen Stoffen oder über Hemmung von Fermentsystemen brachten noch kein positives Ergebnis.

Nach den Experimenten an isolierten Organen besteht für die Toxizität keine entscheidende Empfindlichkeit an glatter und quergestreifter Muskulatur, sowie an Herz und Gefäßen.

Die Bezeichnung „Nervengift" erscheint uns in der pharmakologischen Ausdrucksweise für das DDT falsch. Seine Reizwirkung auf periphere sensible Elemente ist äußerst geringfügig und in quantitativer Beziehung mit echten Reizstoffen nach der Heubnerschen Einteilung nicht in Parallele zu bringen.

Ein weiterer Vergleich der quantitativen Wirkungsbedingungen von verschiedenen insektiziden Stoffen und sog. Nervengiften sowie Senföl, ergab gewisse Unterschiede in der Wirkungsweise, die eine deutliche Trennung der verschiedenen Giftgruppen erfordert. Dabei konnten einige Besonderheiten im Verhalten insbesondere auch des Senföls ermittelt werden.

Literatur.

[1] Läuger: Helvet. chim. Acta **27**, Nr 4. — [2] Domenjoz: Schweiz. med. Wschr. **1944**, 952. — [3] Riemenschneider: Dtsch. Gesdh.wes. **2**, 56 (1947). — [4] Harms: Dtsch. Gesdh.wes. **1**, 169 (1946). — [5] Meyer, H. H.: Die experimentelle Pharmakologie. Berlin 1925. — [6] Rossi: Zit. nach Ronas Ber. **119**, 643 (1940). — [7] Heubner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 129 (1925). — [8] Loewe: Erg. Physiol. **27** (1928). — [9] Emmel u. Krüpe: Z. Naturforsch. **1**, 691 (1946). — [10] Bacq: Arch. internat. Pharmacodynam. **63**, 59 (1939). — [11] Lundsgaard: Biochem. Z. **217**, 162 (1930). — [12] Lipschitz u. Osterroth: Pflügers Arch. **205**, 354. — [13] Labes u. Bergstermann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 389 (1937). — [14] Wels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **204**, 323 (1947). — [15] Taubmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **150**, 257 (1930).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Rostock
(Direktor: Prof. Dr. P. Holtz).

Zellreiz und Zellschädigung: Untersuchungen über die „Reizgärung" und „Reizatmung" der Hefezelle*.

Von

Peter Holtz, Maria Exner und Hans-Joachim Schümann.

Mit 18 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juni 1947).

Vor nahezu 60 Jahren veröffentlichte der damalige Greifswalder Pharmakologe Hugo Schulz[1] unter dem Titel „Über Hefegifte" die Ergebnisse von Untersuchungen, die den einige Jahre vorher von dem Greifswalder Psychiater Rudolf Arndt als „biologisches Grundgesetz" formulierten Vorstellungen von der gegensätzlichen Wirkung starker und schwacher Reize auf biologische Vorgänge eine experimentelle Fundierung geben sollten. Die als „Arndt-Schulzsches Gesetz" bekannte Formulierung besagt, daß schwache Reize, im Gegensatz zu starken und stärksten Reizen mit ihrer die Lebenstätigkeit hemmenden oder vernichtenden Wirkung, anfachend und fördernd wirken. Das formulierte Abhängigkeitsverhältnis zwischen Reizstärke und Reizbeantwortung, zwischen Dosis und Wirkung widerspricht, soweit es sich in den Versuchsergebnissen von Hugo Schulz manifestiert, der apriorischen Auffassung dieser Beziehungen; denn es wäre von vornherein anzunehmen, daß die hemmende oder lähmende Wirkung, die durch einen starken Reiz verursacht wird, mit abnehmender Reizstärke kleiner würde und schließlich einfach verschwände, wenn die Reizstärke unter ihren Schwellenwert absinkt, daß also der kontinuierlichen Intensitätsabnahme eines hemmenden Reizes eine ebenso kontinuierliche Abnahme der Hemmungs*wirkung* bis zu einem Indifferenzpunkt entsprechen würde. Statt dessen wird behauptet, daß es vor oder auch nach der Erreichung des Indifferenzpunktes, d. h. diesseits oder jenseits der Reizstärke, die keine wahrnehmbare Reaktion mehr auslöst, zu einer Umkehr des anfänglichen Hemmungseffektes in eine Förder- oder Erregungswirkung komme.

Es ist verständlich, daß einer therapeutischen Richtung in der Medizin, für die seit jeher und lange vor der Aufstellung des Arndt-Schulzschen Gesetzes die Ausübung n edrig dosierter, „heilsamer" Reize auf das erkrankte Organ wichtigste therapeutische Methode ist, und von der die Mittelwahl nach dem

* Herrn Professor Dr. Wolfgang Heubner zum 70. Geburtstag.

[1] Schulz, H.: Pflügers Arch. **42**, 517 (1888).

Gesichtspunkt getroffen wird, daß die Substanz, welche bei höherer Dosierung die zu bekämpfenden Krankheitssymptome hervorruft, in genügend verminderter Dosis nur einen heilsamen Reizzustand verursache und durch die hiermit verbundene Stimulierung der Abwehrkräfte zum Heilmittel werde —, daß der *Homöopathie* mit ihrem Simileprinzip die zum „biologischen Grundgesetz" erhobene und durch Hugo Schulz mit seinen Untersuchungen an Hefezellen experimentell begründete Auffassung von der gegensätzlichen Wirkung starker und schwacher Reize besonders willkommen sein mußte, da sie ihrem wichtigsten therapeutischen Prinzip nachträglich eine experimentell-wissenschaftliche Basis und Begründung gab.

Weshalb aber auch rein *wissenschaftliches* Interesse an dem durch das „Arndt-Schulzsche Gesetz" ausgedrückten Tatbestand bis heute wach geblieben ist, dürfte eine wesentliche Ursache darin haben, daß mit der Aussage über Beziehungen zwischen Reizintensität und Reizerfolg die Frage nach dem Wesen des „Reizes" aufgeworfen und damit an Dinge gerührt wird, die für den theoretischen Biologen mit zu den „letzten Dingen" gehören, zu einem Kreis von Problemen und Fragen, die trotz jahrzehntelangen Bemühens noch immer auf eine befriedigende Lösung warten. Für eine solche wäre vor allem eine Vertiefung unseres zellphysiologischen und zellpharmakologischen Wissens notwendige Voraussetzung. Denn in der Zelle als funktioneller Einheit ist der eigentliche Träger der durch den einwirkenden Reiz ausgelösten biologischen Reaktion zu erblicken; in ihr oder an ihr spielt sich die „Primärreaktion" ab. Hieraus ergibt sich von selbst die Forderung, die dem „Arndt-Schulzschen Gesetz" zugrunde liegende Problematik als eine *zellphysiologische* oder *zellpharmakologische* aufzufassen und zu ihrer Erforschung die Methoden und die Testobjekte dem anzupassen.

Da die Reizbarkeit eine Grundeigenschaft des Lebens ist, so wird die Primärreaktion, zu deren Auslösung es unter der Reizwirkung kommt, unter den Elementarreaktionen der Zelle zu suchen sein: z. B. den energieliefernden Reaktionen des Stoffwechsels — Atmung und Gärung — oder dem Wachstum. In den Hefeversuchen von Hugo Schulz wird die Wirkung von Giften auf die alkoholische Gärung untersucht mit dem Ergebnis, daß die meisten der geprüften Stoffe, welche die Hefegärung in hoher Konzentration schädigen, bei entsprechend herabgesetzter Dosierung mehr oder weniger deutlich fördern. Die später an diesen Untersuchungen geübte Kritik betrifft einmal die von H. Schulz angewandte Methode, sodann die Deutung der positiven Befunde im Sinne einer „Anfachung oder Förderung der Lebenstätigkeit durch schwache Reize". Die methodischen Einwände bestehen wohl insofern zu Recht als die verhältnismäßig kleinen als positiv bewerteten Ausschläge in manchen Versuchen tatsächlich innerhalb der Fehlerbreite der zur Bestimmung der entwickelten Kohlensäure benutzten Methode liegen dürften, deshalb nicht als signifikant anzusprechen sind.

So kommt JOACHIMOGLU[2], der als einer der ersten die HUGO SCHULZschen Versuche mit einigen der von diesem untersuchten Gifte nachgeprüft hat, bei Anwendung einer offenbar exakter arbeitenden Methode zu vollständig negativen Resultaten. Er findet, daß alle Gifte und alle untersuchten Giftkonzentrationen, soweit sie überhaupt eine wahrnehmbare Wirkung ausüben, die Hefegärung schädigen und niemals eine Förderwirkung erkennen lassen.

Einige Jahre später von H. ZELLER[3] und von R. MEIER[4] im HEUBNERschen Institut vorgenommene Nachprüfungen kommen zu einem anderen Ergebnis. Wenn die Autoren ihre Versuchsergebnisse auch nicht als experimentellen Beweis für die Richtigkeit des ARNDT-SCHULZschen Gesetzes gelten lassen wollen, so stellen ihre mit einwandfreier Methodik erhaltenen Resultate doch de facto eine Bestätigung der von HUGO SCHULZ — wenn auch an Hand methodisch angreifbarer Versuche — gemachten Angabe dar, daß Gifte bei genügender Verminderung der Konzentration die Kohlensäureproduktion gärender Hefe mitunter erhöhen können. Die von H. SCHULZ den beobachteten Wirkungen gegebene Deutung als einer gesetzmäßigen „Anfachung und Förderung der Lebenstätigkeit" durch schwache Reize wird allerdings abgelehnt. H. ZELLER begründet diese Ablehnung damit, daß „ein biologischer Effekt, der nur einige Prozent im Höchstfall erreicht, nicht als Reiz angesprochen werden kann und für einen biologischen Prozeß gar nichts sagt". R. MEIER muß auf Grund seiner Versuche zu einer Ablehnung kommen, da seine Versuchsergebnisse kein gesetzmäßiges Verhalten erkennen lassen, indem die in einigen Fällen beobachtete Steigerung des Gärungsvorganges bei weitem nicht für alle Gifte gilt und nur bei Hefearten eines bestimmten Stoffwechseltyps auftritt, so z. B. bei *Brennereihefe* mit fast gleichstark ausgeprägtem Gärungs- und Atmungsvermögen, nicht aber bei untergäriger *Bierhefe*, deren Atmung hinter der Gärung ganz zurücktritt. Andererseits zeigen seine Versuche, in denen die aerobe Gärung neben der Atmung gemessen wurde, daß den manometrisch als Gärungsförderung imponierenden Druckzunahmen häufig eine Schädigung der Atmung parallel geht, es sich in solchen Fällen also wahrscheinlich nur um einen *scheinbaren*, durch die Abnahme des Sauerstoffverbrauchs vorgetäuschten Gärungsanstieg handelt. Die beobachteten Förderungen der *aeroben* Gärung überstiegen denn auch nie die Normalwerte der *anaeroben* Gärung. Schließlich wird darauf hingewiesen, daß eine Förderung oder Hemmung der „Lebenstätigkeit" nicht aus der Beeinflussung einer Einzelfunktion der Zelle erschlossen werden kann, daß hierzu vielmehr eine *bilanzmäßige* Erfassung des gesamten biologischen Geschehens erforderlich wäre.

Kann es somit, wenn auch nur zu einer scheinbaren Förderung der *einen* Funktion durch die Hemmung einer *anderen* kommen, was z. B. *methodisch* von Bedeutung ist, so wissen wir seit den bekannten Untersuchungen JACQUES LOEBS[5] über die chemische Entwicklungserregung des Seeigeleies und die Beziehungen zwischen Befruchtung und Sauerstoffverbrauch, sowie durch die Untersuchungen OTTO WARBURGS[6] über den Stoffwechsel der normalen und Carcinomzelle, daß schädigende Einwirkungen verschiedenster Art — mechanische, thermische, chemische —

[2] JOACHIMOGLU, G.: Biochem. Z. **130**, 239 (1922). — [3] ZELLER, H.: Biochem. Z. **171**, 43 (1926). — [4] MEIER, R.: Biochem. Z. **174**, 384 (1926). — Naunyn-Schmiedebergs Arch. **122**, 129 (1927). — [5] LOEB, J.: Die chemische Entwicklungserregung des Seeigeleis. Berlin 1909. — [6] WARBURG, O.: Der Stoffwechsel der Tumoren. Berlin 1924.

echte Stoffwechselsteigerungen verursachen können. In neueren Untersuchungen von Runnström[7] an Seeigeleiern wird von akuten, „stoßartigen", kurzdauernden Atmungssteigerungen und vom Auftreten aerober Spaltungsvorgänge berichtet, wenn hypertonische Salzlösungen auf die unbefruchteten Eier einwirken. In letzter Zeit ist sodann aus dem Heubnerschen Institut[8] eine größere Zahl von Arbeiten über die Wirkung chemischer Reize auf Wachstum und Stoffwechsel von Zellen und überlebendem Gewebe hervorgegangen, in denen *Steigerungen* der *Atmung* und *Glykolyse* als charakteristisch für den „Stoffwechsel des geschädigten Gewebes" beschrieben werden[9].

Von der Grundlage dieser neuen Erkenntnisse aus haben wir es noch einmal unternommen, die alten Versuche von Hugo Schulz über die Wirkung verschieden starker chemischer Reize an dem von ihm benutzten Testobjekt, der Hefezelle, zu wiederholen, zu erweitern und die Ergebnisse zu deuten.

Versuchsergebnisse.

Methodik. Zu den Versuchen wurde *Bierhefe* der hiesigen Triebseer Brauerei und *Bäckerhefe* benutzt. Die Bierhefe wurde 2—3 mal mit Leitungswasser gewaschen und dann zentrifugiert. Von dem so gewonnenen ziemlich festen Hefeschlamm wurden 5—10%ige Suspensionen in Wasser hergestellt und durch Mull filtriert. Von der Bäckerhefe wurden ebenfalls 5—10 g in 100 ccm Wasser aufgeschwemmt und aus diesen Stammsuspensionen die gewünschten Konzentrationen durch Verdünnen mit Leitungswasser hergestellt. Miteinander vergleichbar sind immer nur die einzelnen Ansätze ein und desselben Versuches.

Gärung und *Atmung* wurden bei 22—25°C in der Warburg-Apparatur gemessen. Die Ablesungen der Manometer-Ausschläge erfolgten in Abständen von 5—10 Min. Die Reaktionsgefäße, die ein Volumen von ungefähr 15 ccm hatten, besaßen 1 oder 2 retortenförmige Anhänge, aus denen die Lösung der zu prüfenden Substanz nach Eintritt des Temperaturausgleichs zu der von Anfang an in den Hauptraum einpipettierten Hefesuspension eingekippt wurde. Zur Messung der *Atmung* enthielt der Einsatz der Reaktionsgefäße 0,2 ccm 10%ige KOH. Zur Messung der *anaeroben Gärung* wurden die Gefäße eine Minute lang mit CO_2 durchströmt (Stickstoff stand uns nicht zur Verfügung). Die aerobe Gärung wurde in Luftatmosphäre gemessen. Das Flüssigkeitsvolumen wurde in allen Versuchen auf 2,5 ccm gebracht. Die zu prüfenden Substanzen wurden im allgemeinen in einem Volumen von 0,25 ccm aqua dest. zugesetzt, so daß durch das Einkippen in den Hauptraum der Versuchsgefäße eine zehnfache Verdünnung erfolgte.

In den Versuchen, in denen *Wärmereize* zur Anwendung kamen, wurde die Hefesuspension in dünnwandigen, weitlumigen Reagenzgläsern für bestimmte Zeit in ein Wasserbad eingetaucht, das vorher auf die gewünschte Temperatur gebracht worden war. Anschließend verblieben die Gläser zusammen mit denen,

[7] Runnström, J.: Acta Zool. **9**, 445, (1928). — Protoplasma (D.) **15**, 532 (1932); **20**, 1 (1934). — Siehe auch Örström, A.: Protoplasma (D.) **20**, 293 (1934). — [8] Orzechowski, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 229 (1935). — Druckrey, H. u. E. Schreiber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 208 (1938). — Heubner, W. u. E. Schreiber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 78, 98, 105 (1940). — [9] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 231 (1936); **188**, 436, 451 (1938); **191**, 687 (1939); **193**, 711 (1939).

welche die nicht erwärmten Kontrollen enthielten, mindestens 5 Min. lang in kaltem Leitungswasser. Erst dann wurden die Hefesuspensionen in die Versuchsgläser der WARBURG-Apparatur einpipettiert. Die *Ultraviolettbestrahlungen* wurden mit einer Hanauer Quecksilberdampflampe im Abstand von 20—30 cm vorgenommen. Um jeden Wärmeeffekt auszuschließen, wurden die Quarzgläser, in denen die Hefesuspensionen sich befanden, während der Bestrahlungszeit mit kaltem Wasser berieselt.

1. Scheinbare Gärungsförderungen.

Wenn die Hefegärung wie in den Versuchen von HUGO SCHULZ bei Gegenwart von Luftsauerstoff im geschlossenen System manometrisch an der Druckzunahme gemessen wird, die durch die Entstehung gasförmiger Kohlensäure zustande kommt, so stellen die abgelesenen Werte die Resultante dar zwischen der durch die *Abgabe* eines Gases an den Gasraum zu erwartenden *Drucksteigerung* und der auf dem *Verschwinden* eines Gases — des veratmeten Sauerstoffs — beruhenden *Druckverminderung*. Vergiftet man die Atmung, so wird es zwangsläufig zu einem Ansteigen der positiven Drucke kommen müssen: die Produktion der gleichen Kohlensäuremenge wird jetzt eine stärkere Druckzunahme verursachen als vorher bei intakter Atmung. Der Prototyp eines Giftes, das auf diese Weise durch elektive Vergiftung der Atmung zu einer scheinbaren, weil nur methodisch bedingten Förderung der Gärung führt, ist bekanntlich die Blausäure. Es ist verständlich, daß solche „Förderungen" oder „Reizwirkungen" und „Erregungseffekte", denen in Wirklichkeit Lähmungen und Schädigungen zugrunde liegen, nur da deutlich werden können, wo die zu lähmende Funktion stark entwickelt ist: eine scheinbare Stimulierung der Hefegärung durch Lähmung der Atmung also nur bei Heferassen mit deutlich ausgeprägter Atmung, wie z. B. bei *Bäckerhefe*, deren Stoffwechseltyp, wie schon aus älteren Untersuchungen MEYERHOFS[10] hervorgeht, sich von dem der Bierhefe darin wesentlich unterscheidet, daß ein Angebot von Glukose mit einem kräftigen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs beantwortet wird (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Verschiedener „Stoffwechseltyp" von Bier- und Bäckerhefe.*

Versuchsdauer	1,0 ccm Bierhefe (1%ige Suspension) 1,0 ccm $KH_2 \cdot PO_4$ (3%)				1,0 ccm Bäckerhefe (1%ige Suspension) 1,0 ccm $KH_2 \cdot PO_4$ (3%)			
	—	0,25 ccm Glukoselösung 5%			—	0,25 ccm Glukoselösung 5%		
	cmm O_2		cmm CO_2		cmm O_2		cmm CO_2	
Min.			anaerob	aerob			anaerob	aerob
40	32	26	308	252	28	130	260	58

Glukoseangebot steigert die Atmung der Bäckerhefe, nicht diejenige der Bierhefe. Aerobe Gärung der Bäckerhefe ist weit schwächer als anaerobe Gärung, bei Bierhefe beide Gärungen fast gleichstark.

[10] MEYERHOF, O.: Biochem. Z. **162**, 43 (1925).

Befänden sich unter den von H. Schulz untersuchten „Hefegiften" solche vom Wirkungstyp der Blausäure, so wäre bei der von ihm benutzten Methode (manometrische Messung der CO_2 unter aeroben Versuchsbedingungen) und Hefeart (Bäckerhefe) erklärlich, weshalb es bei der Einwirkung bestimmter Giftkonzentrationen, nämlich solcher, welche die Atmung der Hefezelle stärker schädigen als die Gärung, zu einem Anstieg der manometrisch gemessenen Druckwerte kommen mußte, die von ihm als reale Förderung der Gärung aufgefaßt und von der Grundlage des „biologischen Grundgesetzes" aus im Sinne einer „Anfachung und Förderung der Lebenstätigkeit durch schwache Reize" gedeutet wurden. Es wäre weiterhin erklärlich, weshalb Joachimoglu[2], obwohl auch er mit Bäckerhefe und unter aeroben Bedingungen arbeitete, in keinem einzigen Fall Hugo Schulz bestätigen konnte, denn er bestimmte die Gärungskohlensäure nicht indirekt-*manometrisch*, sondern direkt-*gravimetrisch*.

Tabelle 2. „*Scheinbare Gärungsförderungen*".

Versuchsnummer	Versuchsdauer Min.	2,0 ccm Bäckerhefe (1,5%ige Suspension) 0,25 ccm KH_2PO_4 m/2 0,25 ccm Glukoselösung 5%					
					0,25 ccm Kal. arsenit 1/100		
		cmm O_2	cmm CO_2		cmm O_2	cmm CO_2	
			anaerob	aerob		anaerob	aerob
1	60	308	466	48	41	290	168
					0,25 ccm Cystein m 200		
		cmm O_2	cmm O_2		cmm O_2	cmm CO_2	
			anaerob	aerob		anaerob	aerob
2	60	338	498	25	317	452	343

1. Hemmung der anaeroben Gärung und der Atmung durch dreiwertiges Arsen. „Scheinbare Förderung" der aeroben Gärung. — 2. Hemmung der „Pasteurschen Reaktion" durch Cystein.

Unter den von Hugo Schulz geprüften Giften befindet sich auch *Arsenik*. Der Versuch 1 der Tabelle 2 zeigt, wie es unter der Einwirkung von Kalium arsenicosum 1 : 1000 zu einem Anstieg der *aeroben* Gärung auf mehr als das Dreifache kommt, daß es sich hierbei aber nicht um eine tatsächliche Stimulierung des Gärungsvorganges handeln kann, dieser vielmehr, wie der *anaerobe* Ansatz zeigt, sogar gehemmt ist. Der Anstieg der aeroben Gärung ist nur ein scheinbarer und hat seine Ursache darin, daß das 3-wertige Arsen blausäureähnlich die Atmung weit stärker hemmt, — innerhalb der Versuchszeit um das $7^1/_2$fache —, als die anaerobe Gärung, die in diesem Versuch von 466 cmm CO_2 auf 290 cmm, also nur um $^1/_3$ abnimmt. Eine Steigerung der aeroben über die Werte der anaeroben Gärung hinaus würde auf diesem Wege nicht möglich sein. Ähnlich wie Arsen verhält sich nach den schon erwähnten Untersuchungen von R. Meier[4] *Phenol*.

Ein anderer Mechanismus liegt offenbar der Förderung der aeroben Gärung durch *Cystein* zugrunde, wie sie in dem Versuch 2 der Tabelle 2 zum Ausdruck kommt. Die Werte für die aerobe Gärung sind unter dem Einfluß einer 1/2000 molaren Cystein-Konzentration um das 14-fache angestiegen und nähern sich denen der anaeroben Gärung. Im Gegensatz aber zu *Arsen* und *Blausäure* verursacht *Cystein* keine nennenswerte Atmungshemmung und läßt auch die anaerobe Gärung intakt. Es blockiert lediglich die als PASTEURsche Reaktion bekannte Wirkung der Atmung bzw. des Sauerstoffs auf die Gärung, so daß der größte Teil der Zwischenprodukte des Kohlehydratabbaus, der sonst bei guter Sauerstoffversorgung resynthetisiert würde, jetzt der Vergärung anheimfällt. Die körpereigene Aminosäure Cystein ist somit in ihrer Fähigkeit, die PASTEURsche Reaktion selektiv zu vergiften, dem von OTTO WARBURG[11] als spezifisches Gift dieser Reaktion erkannten *Blausäureäthylester* an die Seite zu stellen. Der unter der Cysteinwirkung auftretende Anstieg der aerob gemessenen Manometerausschläge ist natürlich kein scheinbarer und nicht methodisch bedingt, sondern real: ihm entspricht eine wirkliche Mehrproduktion von Kohlensäure. Hätten sich unter den von H. SCHULZ untersuchten Substanzen Gifte der PASTEURschen Reaktion befunden, so hätte deren bei geeigneter Dosierung in Erscheinung tretende gärungsfördernde Wirkung deshalb auch bei der von JOACHIMOGLU unter *gravimetrischer* Bestimmung der Kohlensäure vorgenommenen Nachprüfung beobachtet werden müssen.

Durch Hemmung der Atmung oder durch Blockierung der PASTEURschen Reaktion, also durch Lähmung und Schädigung zellulärer Funktionen können somit Stimulierungen und Reizwirkungen vorgetäuscht werden, die an Hefezellen z. B. als Förderung der aeroben Gärung in Erscheinung treten. Von einer *echten* Förderung der Gärung unter dem Einfluß von Giften wäre zu fordern, daß sie über die Werte für die anaerobe Gärung hinausführte und diese selbst beträfe.

2. Echte Gärungssteigerungen: „Reizgärungen".

a) Versuche mit Sublimat.

In den Versuchen der Tabelle 3 wurde die Gärung *anaerob* gemessen. Die beobachteten Förderungen betragen bei der wirksamsten Dosis fast 100%. In der Reihe der untersuchten $HgCl_2$-Konzentrationen beginnt die Förderwirkung im Versuch 1 bei der Verdünnung 1 : 20000 (0,25 ccm $HgCl_2$ 1/2000) und erreicht ihr Maximum bei 1 : 40000, im Versuch 2 ist das Wirkungsmaximum zur Seite der stärkeren Verdünnungen hin verschoben, es liegt bei 1 : 160000. Höhere Sublimat-Konzentrationen hemmen die Gärung, niedrigere bleiben ohne Wirkung. Das ARNDT-

[11] WARBURG, O.: Biochem. Z. **172**, 432 (1926).

Tabelle 3. *„Starke Reize hemmen, schwache Reize fördern die Lebenstätigkeit"* (Arndt-Schulz*sches Gesetz*).

Versuchsnummer	Versuchsdauer Min.	2,0 ccm Bierhefe + 0,25 ccm Glukose 2% cmm CO_2							
		—	0,25 ccm Hg · Cl_2						
			1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000	1/32000
1	160	1390	0	490	1603	2268	1574	1378	1400
2	120	543	—	—	35	318	701	859	652
		2,0 ccm Bierhefe ohne Glukose („Eigengärung") cmm CO_2							
1a	160	330	3	418	1274	1227	505	311	295
2a	120	90	—	—	15	212	430	380	204

		ohne Glukose		0,25 ccm Glukose 0,5%		0,25 ccm Glukose 5%		0,25 ccm Hg Cl_2 1/4000
		—	Hg·Cl_2*	—	Hg·Cl_2*	—	Hg·Cl_2	
3	200	148	495	458	790	2480	1020	

„Reizgärungen" durch Sublimat: die Eigengärung der Hefe wird durch bestimmte $HgCl_2$-Konzentrationen gesteigert. Bei Zusatz von Glukose addiert sich „Hg-Effekt" und „Glukose-Effekt", wenn die Sublimatdosis unter der „Schädigungsdosis" liegt.

Schulzsche Gesetz mit seiner Aussage über die gegensätzliche Wirkung starker und schwacher Reize scheint somit erfüllt zu sein.

Im Versuch 1 müßte sich eine zwischen den Verdünnungen 1 : 1000 und 1 : 2000 gelegene Dosis finden lassen, die wie die Konzentrationen 1 : 16000 und 1 : 32000 die Gärung unbeeinflußt ließe. In der absteigenden Reihe der Sublimat-Konzentrationen, — von den starken Hemmungs- bis hinab zu den schwachen Dosen, die wirkungslos bleiben —, würden somit *2 Indifferenzzonen* durchlaufen, von denen die eine *vor*, die andere *hinter* dem Bereich der Verdünnungen mit Förderwirkung liegt. Hugo Schulz beschreibt in seiner Arbeit „Über Hefegifte" diesen Tatbestand, indem er sagt „daß bei zunehmender Verdünnung des $HgCl_2$ eine Art von Gleichgewichtszustand zwischen Hefe und Gift sich entwickelt (in unserem Versuch 1 der Tabelle 3 zwischen $HgCl_2$ 1 : 1000 und 1 : 2000), derart, daß scheinbar gar keine Wirkung sich äußert. Dann tritt das Verhältnis ein, daß die Hefe übernormal arbeitet (in unserem Versuch bei $HgCl_2$ 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 8000), und bei noch weiter getriebener Herabsetzung der Sublimatkonzentration kommt endlich der vorige Zustand des Gleichgewichts wieder zum Ausdruck" (bei den Konzentrationen 1 : 16000 und 1 : 32000 unseres Versuches). In dem von H. Schulz mitgeteilten Versuch liegen die den einzelnen Wirkungsbereichen zugehörigen Giftkonzentrationen zwar um rund eine

Zehnerpotenz tiefer als in den von uns in die Tabelle 3 aufgenommenen Versuchen, indem der Bereich der Förderdosen Konzentrationen von 1:500000 bis 1:700000 $HgCl_2$ umfaßt. Das bedeutet jedoch keine prinzipielle Verschiedenheit, denn schon in unserem Versuch 2 der Tabelle 3, der mit der gleichen Hefeart gemacht wurde wie Versuch 1, nur mit etwas variierter Zuckermenge und vielleicht ein wenig verschiedener Hefekonzentration, liegt das Maximum der Wirkung bei einer 4fach niedrigeren Quecksilber-Konzentration. Die Ergebnisse unserer Sublimat-Versuche scheinen somit die experimentellen Befunde von Hugo Schulz zu bestätigen.

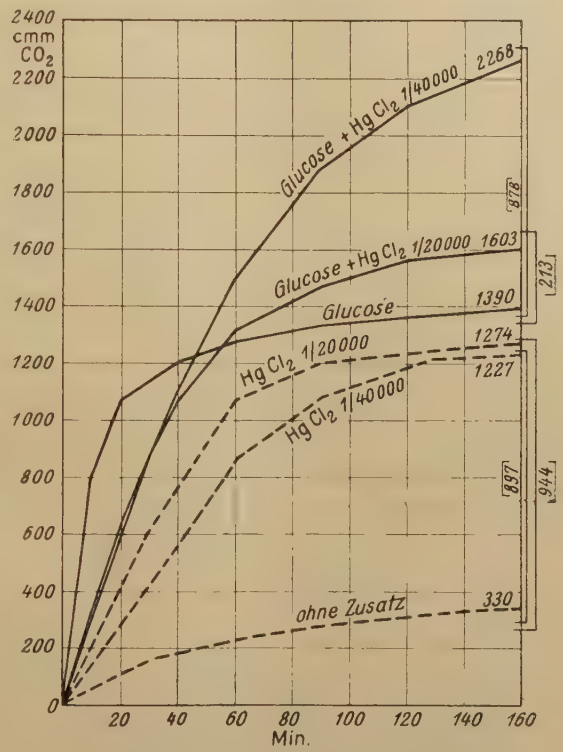


Abb. 1. „Reizgärung" durch Sublimat. Addition des Hg- und Glukoseeffekts. Versuchsansätze (anaerob): 2,0 ccm Bierhefe in KH_2PO_4 m/20, 0,25 ccm aqu. dest. bzw. Glukose 2%, 0,25 ccm $HgCl_2$ 1/2000 bzw. 1/4000.

Läßt man nun aber, wie im Versuch 3 der Tabelle 3, die gleiche Sublimat-Konzentration von 1:4000 das eine Mal in Gegenwart einer *kleinen* Glukosemenge — 0,25 ccm Glukose, 0,5%ig —, das andere Mal in Gegenwart einer *10fach größeren* Glukosemenge — 0,25 ccm Glukose 5%ig — auf Hefe einwirken, so ist im ersten Fall die Gärleistung gegenüber derjenigen des giftfreien Kontrollansatzes deutlich erhöht, im zweiten Fall stark vermindert. Je kleiner die angebotene Zuckermenge, um so deutlicher die Gärungsförderung durch Sublimat. Am reinsten tritt sie in Erscheinung, wenn man das Gift in zucker*freien* Ansätzen zur Einwirkung bringt. Die Versuche 1a und 2a zeigen die Wirkung von Sublimat auf die „Eigengärung" der Hefe. Unter dem Einfluß des Giftes kommt es hier bei geeigneter Dosierung zu Steigerungen der Kohlensäureproduktion um mehrere 100%. Die Differenzen zwischen den gift*freien* und gift*haltigen* Eigengärungen, die der reinen Hg-Wirkung entsprechen, — z. B. im Versuch 1a für $HgCl_2$ 1:4000: 1227 —

330 = 897 cmm CO_2; für $HgCl_2$ 1 : 8000 : 505 − 330 = 175 cmm CO_2 — addieren sich nun in den zuckerhaltigen Ansätzen der Versuche 1 und 2 zu den Werten für die giftfreie Kontrolle hinzu — im Versuch 1 für $HgCl_2$ 1 : 4000 : 897 + 1390 = 2287 cmm CO_2 (gefunden 2268 cmm), für $HgCl_2$ 1 : 8000 : 175 + 1390 = 1565 cmm (gefunden 1574 cmm). Voraussetzung für das Zustandekommen additiver Effekte ist einerseits, daß die *$HgCl_2$-Konzentration* nicht zu hoch ist, da es sonst offenbar zu einer mehr oder weniger starken Drosselung der Glukosevergärung kommt und die Gesamtgärleistung nicht mehr der *Summe* der Einzeleffekte — des Glukose- und des Quecksilbereffekts — entspricht, sondern kleiner ist als diese. Schon die Sublimatkonzentration, welche die stärkste „*Reizwirkung*" auf die Eigengärung ausübt, erweist sich in dieser Hinsicht als „*Schädigungsdosis*": die bei Addition der Einzelwirkungen zu erwartende Summe wird bei weitem nicht mehr erreicht. — Die Abb. 1 stellt den Verlauf des Versuchs für die Sublimatkonzentrationen 1 : 20000 und 1 : 40000 kurvenmäßig dar. In ihrer Wirkung auf die Eigengärung erweisen die beiden Konzentrationen sich als praktisch gleichwertig (1274 bzw. 1227 cmm CO_2). Der Parallelversuch unter Zusatz von Glukose enthüllt jedoch die verschiedene „biologische Wertigkeit" der beiden durch das Gift verursachten Reizgärungen, indem nur die durch die kleinere $HgCl_2$-Dosis „*gereizte*" Zelle noch fähig ist, Glukosegärung und $HgCl_2$-Effekt zu addieren, die durch die höhere Quecksilberdosis „*geschädigte*" Zelle dagegen nicht.

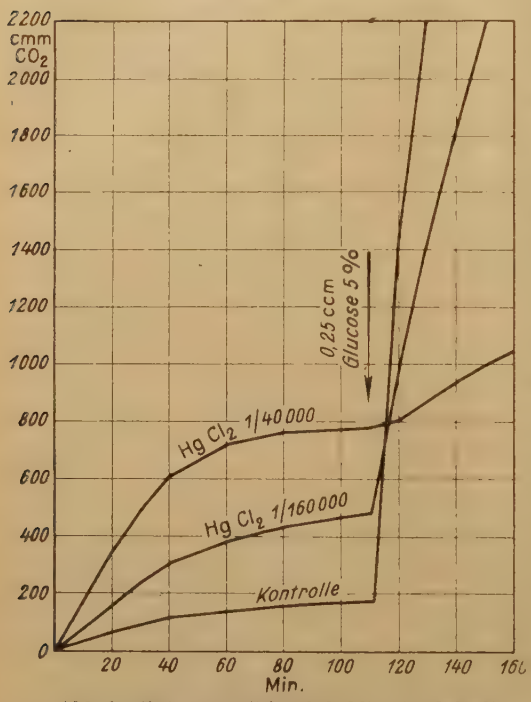


Abb. 2. „Reizgärung" durch Sublimat. „Schädigung" durch die höhere $HgCl_2$-Konzentration; die Vergärung nachträglich zugesetzter Glukose ist gehemmt. Versuchsansatz wie in Abb. 1.

	$HgCl_2$ 1:40000	$HgCl_2$ 1:20000
„Glukosegärung":	1390 cmm CO_2	1390 cmm CO_2
„Reizgärung" (Hg-Effekt)	897 cmm CO_2	944 cmm CO_2
	2287 cmm CO_2 (berechnet)	2334 cmm CO_2 (berechnet)
	2268 cmm CO_2 (gefunden)	1603 cmm CO_2 (gefunden)

Abb. 3. Addition von Sublimat- und Glukoseeffekt nur bei kleiner Glukosemenge, Hemmung der Vergärung größerer Glukosemengen. Versuchsansatz (anaerob): 2,0 ccm Bierhefe, 0,25 ccm aqua dest. bzw. Glukose 0,5 bzw. 8 %, 0,25 ccm $HgCl_2$ 1/1500.

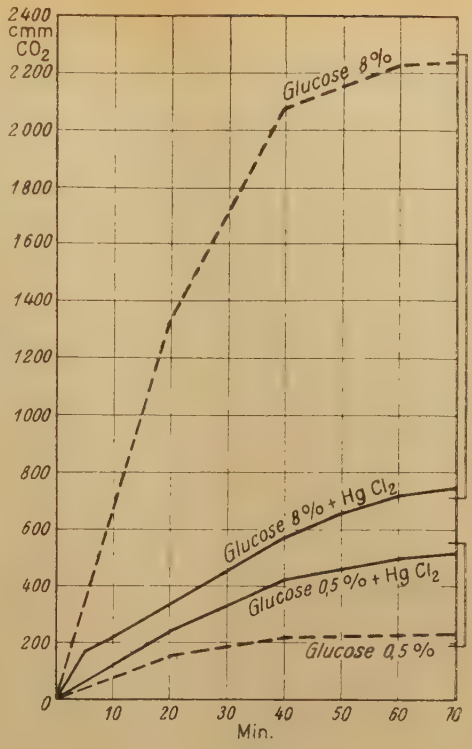


Abb. 3.

Abb. 4. (ARNDT-SCHULZsches Gesetz.) „Reizgärung" durch Jod. Förderung durch schwache, Hemmung durch starke Dosen. — Durch mittelstarke Joddosen wird die Eigengärung zwar auch gefördert (1 : 4000, 1 : 5000), aber weniger stark als durch schwächere Dosen (z. B. 1 :10 000): „Abgeschwächte Förderung". Versuchsansatz: 2,0 ccm Bierhefe (10 %ige Suspension), 0,25 ccm $KH_2 \cdot PO_4$ m/2, 0,25 ccm aqua dest. bzw. Jod 1 : 300—1 : 2000 (als LUGOLsche Lösung).

Abb. 5. „Reizgärung" durch Silbernitrat. „Starke Reize hemmen, schwache Reize fördern" (ARNDT-SCHULZsches Gesetz). (Versuchsanordnung wie Abb. 4.)

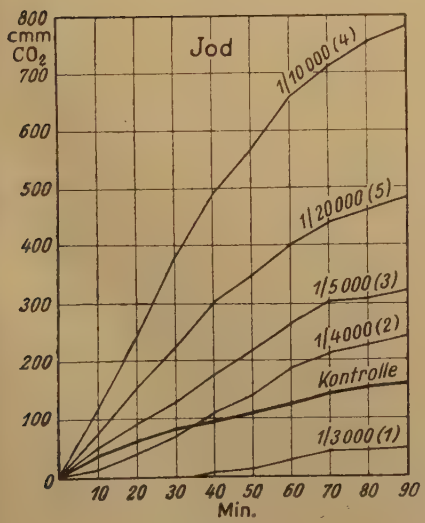


Abb. 4.

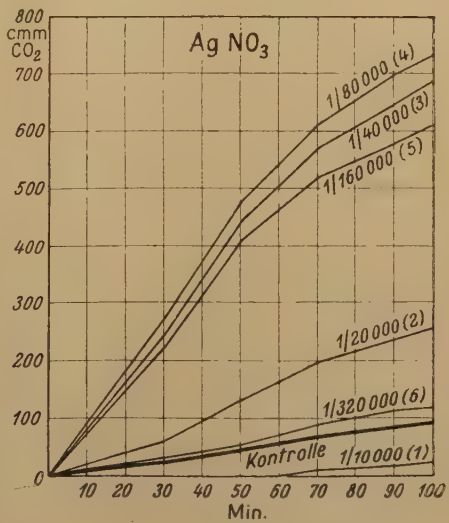


Abb. 5.

Das wird besonders deutlich, wenn man nach beendeter „Reizgärung" in den gift*freien* und gift*haltigen* Ansatz die gleiche Glukosemenge einkippt (Abb. 2). In diesem Versuch wird schon durch $HgCl_2$ 1 : 40000 die Vergärung der nachträglich zugesetzten Glukose stark gehemmt. Die 4mal kleinere Sublimatmenge — $HgCl_2$ 1 : 160000 —, die auch eine deutliche Reizgärung hervorgerufen hatte, läßt die Glukosevergärung dagegen praktisch unbeeinflußt.

Andererseits ist für eine Addition von Glukose- und Sublimateffekt die angebotene *Glukosemenge* von Bedeutung. Die $HgCl_2$-Dosis, welche die vollständige Vergärung einer *kleinen* Zuckermenge noch zuläßt, hemmt die Vergärung einer *größeren* Zuckermenge (Tabelle 3, Versuch 3 und Abb. 3). — Der Versuch, die durch Sublimat in höherer Dosierung verursachte Hemmung der *Glukosevergärung* zu erklären, muß berücksichtigen, daß diese Hemmungswirkung von Giftdosen ausgeübt wird, welche die *Eigengärung* der Hefe in Form einer gewaltig gesteigerten „Reizgärung" fördern. Es wird dann unwahrscheinlich, daß die Hemmungswirkung auf die Vergärung der von außen zugesetzten Glukose ihren Angriffspunkt am Fermentsystem der Gärung hat, wahrscheinlicher ist vielmehr, daß einer durch das Gift bedingten Permeabilitätsverminderung für Glukose ursächliche Bedeutung zukommt.

b) Versuche mit Jod, Blei-, Chromsalzen, Arsenit, Arseniat, Phenol und Ameisensäure sowie mit Wärme- und Bestrahlungsreizen.

Die Tabelle 4 enthält einige Versuchsbeispiele. In allen Fällen beobachtet man, ähnlich wie bei den Versuchen mit Sublimat, innerhalb eines mehr oder weniger ausgedehnten Konzentrationsbereichs eine Steigerung der anaeroben Eigengärung, und in vielen Fällen kommt die dem Arndt-Schulzschen Gesetz entsprechende gegensätzliche Wirkung großer und kleiner Dosen, „starker und schwacher Reize" zum Ausdruck. Die Kurven der Abb. 4 und 5 zeigen für Jod und Silbernitrat den *zeitlichen Verlauf* der Wirkung abgestufter Giftmengen. Die in der Abb. 6 dargestellte fast identische Wirkung weit auseinander liegender Joddosen — 1 : 5000 und 1 : 20000 — gibt einen für die Erkennung des *Wirkungsmechanismus* wichtigen Hinweis (Abb. 6). Daß die Konzentration 1 : 20000 eine schwächere „Reizgärung" verursacht als die höhere Dosierung von 1 : 10000, macht dem Verständnis keine Schwierigkeit. Es wäre auch unschwer zu verstehen, wenn die noch höhere Dosierung von 1 : 5000 eine reine *Hemmung* der Grundgärung veranlassen würde, wie z. B. die Jodkonzentration 1 : 3000 der Abb. 4 und die Silbernitrat-Konzentration 1 : 10000 in der Abb. 5 das tun. Statt dessen bewirkt die Joddosis 1 : 5000 eine *Förder*wirkung, die nun aber schwächer ist als die von der kleineren Dosis 1 : 10000 hervorgerufene. Wesentlich scheint demnach zu sein, daß der „starke Reiz" (Jod 1 : 5000) da wo

Tabelle 4. *„Reizgärungen" durch verschiedenartige chemische und physikalische „Reize": Steigerung der Eigengärung durch bestimmte Reizstärken.* (Vgl. auch Abb. 4—6.)

Versuchs-Nr.	Versuchsdauer Min	0,25 ccm „Hefegift"	2,0 ccm Bierhefe (5—10 %ige Suspension) cmm CO_2 (anaerob)							
1	90	Jod	—	1/500	1/1000	1/2000	—	—	—	—
			96	233	504	296	—	—	—	—
2	60	Bleinitrat	—	1/50	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000
			125	329	276	182	156	142	129	123
3	90	$K_2 Cr_2 O_7$	—	1/5	1/25	1/125	—	1/10	1/50	1/250
			225	575	558	675	94	326	262	150
4	100	Kalium arseniat	—	1/20	1/100	Kalium arsenit	—	1/20	1/100	1/500
			157	182	154		157	702	586	374
5	120	$Hg Cl_2$	—	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/16000	1/64000	1/128000
			165	14	114	748	772	328	181	178
6	60	Phenol	—	1/20	1/40	1/80	—	1/20	1/40	
			49	278	72	44	160	510	204	
7	90	Na-Formiat	—	10%	5%	2,5%	1,25%	0,625%		
			242	530	416	228	233	218		
8	90	Ameisensäure	—	3,2%	1,6%	0,8%	0,4%	0,2%		
			150	29	16	186	344	210		
9	90	Wärmereiz	—	10 Min /40°	10 Min./45°		—	10 Min./45°	—	10 Min./45°
			210	272	955		335	962	108	386
10	45	U.V.-Bestrahlung	—	2½ Min.	5 Min.	7½ Min.	10 Min.			
			70	190	285	340	380			

der „schwache Reiz" (Jod 1 : 10000) forderungsgemäß *stimulierend* wirkt, die Gegensätzlichkeit seiner Wirkungsart nicht in einer *Hemmung* der Grundreaktion manifestiert, sondern in einer *abgeschwächten Förderung*. Dadurch wird die Annahme nahegelegt, daß die bei der Einwirkung der chemischen Reize auftretenden Effekte Resultanten zweier gegensinnig beeinflußbarer Reaktionen sind — einer „Erregungs-" und einer „Lähmungsreaktion", einer Förder- und einer Hemmungswirkung, deren voneinander unabhängige und isoliert durch Gifte beeinflußbare Intensität über den summarischen Effekt — ob Hemmung, Förderung oder „abgeschwächte Förderung" — entscheidet. Die gegensätzliche Wirkung „starker und schwacher Reize" auch auf die *anaerobe* Gärung würde sich demgemäß in Übereinstimmung mit den oben für die *aerobe* Gärung dargelegten Verhältnissen nicht an einer *einzigen einheitlichen* Reaktion abspielen, sondern sich auf *zwei verschiedene* Reaktionen von unterschiedlicher Giftempfindlichkeit erstrecken. Bei der aeroben Gärung waren als isoliert beeinflußbare Komponenten der Gesamtwirkung neben der Gärung die Sauerstoffatmung und die Pasteursche Reaktion in Rechnung zu setzen. Es fragt sich, welche Reaktion neben dem durch das Fermentsystem der Gärung katalysierten eigentlichen *Gärungsvorgang* an dem Zustandekommen und der Beeinflussung der durch Gifte verursachten anaeroben „Reizgärung" beteiligt ist. Bevor aber auf diese Frage und damit auf den Mechanismus der Reizgärung näher eingegangen wird, sollen noch einige Untersuchungen über die Wirkung hypertonischer Salzlösungen mitgeteilt werden.

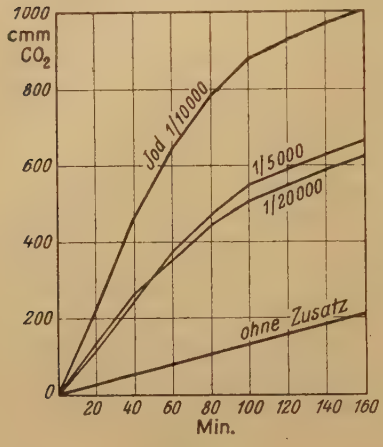


Abb. 6. „Reizgärung" durch Jod. „Abgeschwächte Förderung" durch mittelstarke Dosis (1/5000). Versuchsansatz (anaerob): 2,0 ccm Bierhefe (10 %ige Suspension in Leitungswasser), 0,25 ccm KH_2PO_4 m/2, 0,25 ccm aqua dest. bzw. Jod 1/500, 1/1000, 1/2000. Der Verlauf der Gärkurve ist nach Jod 1 : 5000 und 1 : 20000 praktisch gleich; in der Reihe der auf- und absteigenden Giftkonzentrationen müssen zwei „Indifferenzzonen" durchlaufen werden (s. Text). Die „abgeschwächte Förderung" durch Jod 1 : 5000 weist darauf hin, daß dem summarischen Effekt zwei Einzelreaktionen verschiedener Giftempfindlichkeit zugrunde liegen (s. Text).

c) Versuche mit hypertonischen Salzlösungen.

In dem Versuch 1 der Tabelle 5 wirken reine NaCl-Lösungen auf Hefe ein. Die *anaerobe Eigengärung* steigt fast proportional der osmotischen Wirksamkeit an, so daß in der Hypertonie der Lösungen sicher der wesentliche Faktor für die Auslösung der Reizgärung zu erblicken

Tabelle 5.

Versuchs-Nr.	Versuchsdauer Min.	2,0 ccm Bierhefe (10%) cmm CO_2 (anaerob) —	0,25 ccm Na · Cl 1 mol. (0,58%)	0,25 ccm Na · Cl 2 mol. (1,16%)	0,25 ccm Na · Cl 4 mol. (2,32%)	0,25 ccm Na · Cl 8 mol. (4,64%)
1	90	234	425	776	1103	13'0
			0,5 ccm — 2 mol. Lösung			
			$Na \cdot NO_3$	$NH_4 \cdot Cl$	$Mg \cdot Cl_2$	$K \cdot Br$.
2	90	74	416	418	394	405

„Reizgärung" durch hypertonische Kochsalzlösungen. — Gleiche Wirksamkeit isotonischer Lösungen.

ist. Dem entspricht die fast übereinstimmende Wirksamkeit *isotonischer* Lösungen verschiedener Salze, wie sie der Versuch 2 der Tabelle 5 zeigt. Daß andererseits neben dem *unspezifischen* Faktor „Hypertonie" eine *spezifische* Wirksamkeit, eine spezifische *Giftigkeit* mitbeteiligt sein könnte, gewinnt einige Wahrscheinlichkeit dadurch, daß schon bei einer Endkonzentration von nur 0,58% NaCl eine deutliche „Reizgärung" zustande kommen kann (Tabelle 5). Bei Anwendung höherer Salzkonzentrationen würde dann eine vielleicht dem Natrium-Ion an sich zukommende spezifische Giftigkeit ganz hinter der gleichmachenden und etwa bestehende individuelle Unterschiede überdeckenden Wirkung des osmotischen Effekts zurücktreten.

Eine die Ionen-Permeabilität der Zellwandung herabsetzende *Kalziumwirkung* dürfte die osmotisch „von außen", *extrazellulär* ausgelöste Reizgärung nicht beeinflussen, während z. B. die durch Quecksilberionen „von innen", *intrazellulär* verursachte Wirkung gehemmt werden müßte. Diesen mit Hilfe von Kalziumionen demonstrierbaren unterschiedlichen Wirkungsmechanismus von Sublimat und hypertonischer Kochsalzlösung zeigt der Versuch der Tabelle 6. — *Urethan* hingegen hemmt sowohl die durch Kochsalz als auch die durch Quecksilber erzeugte „Reizgärung", während es die Eigengärung der Hefe unbeeinflußt läßt (Tabelle 7). Auch die durch kurzdauerndes Erwärmen der Hefesuspension gesteigerte Selbstgärung wird durch Urethan gelähmt (Tabelle 7, Versuch 4). Das Intaktbleiben der Eigengärung macht es unwahrscheinlich, daß die Hemmung der „Reizgärung" durch Urethan auf einer Fermenthemmung beruht. Es ist ebenfalls unwahrscheinlich, daß sie ihre Ursache in einer Permeabilitätsänderung hat, da diese sich für eine durch *Hypertonie*, *Erwärmen* und *Schwermetall-Ionen* hervorgerufene Reizung verschiedenartig auswirken müßte.

Tabelle 6.

Versuchs-Nr.	Versuchsdauer Min.	2,0 ccm Bierhefe (10%ige Suspension)							
		—	0,25 ccm $Ca \cdot Cl_2$ m/2	0,5 ccm Na Cl 4 mol.			0,5 ccm $Hg \cdot Cl_2$ 1/8000		
				—	0,25 ccm $Ca \cdot Cl_2$		—	0,25 ccm $Ca \cdot Cl_2$	
					m/2	m/4		m/2	m/4
1	60	62	68	234	246	243	238	101	128
2	60	120	134	712	717	694	796	445	478

Der Einfluß von $CaCl_2$ auf die durch NaCl und $HgCl_2$ verursachte „Reizgärung". Die „extrazelluläre" NaCl-Wirkung bleibt unbeeinflußt, die „intrazelluläre" $HgCl_2$-Wirkung wird gehemmt.

Tabelle 7.

Versuchs-Nr.	Versuchsdauer Min.	1,5 ccm Bierhefe (10%ige Suspension) (anaerobe Gärung: cmm CO_2)					
		0,5 ccm aqua dest.		0,5 ccm NaCl 6,5%		0,5 ccm Na · Cl 13 %	
		—	0,5 ccm Urethan	—	0,5 ccm Urethan	—	0,5 ccm Urethan
1	75	304	314	1252	503	1595	648
2	60	102	112	563	164		
		2,0 ccm Bierhefe (5%ige Suspension)					
		0,25 ccm aqua dest.		0,25 ccm NaCl 4 mol.		0,25 ccm $Hg \cdot Cl_2$ 1/4000	
		—	0,25 ccm Urethan	—	0,25 ccm Urethan	—	0,25 ccm Urethan
3	120	76	78	672	270	985	610
		unbehandelt		10 Min./45 ° C			
		—	0,5 ccm Urethan	—	0,5 ccm Urethan	—	
4	30	200	220	610	450		

Die Wirkung von Urethan (20%ig) auf „Eigengärung" und „Reizgärung". Die „Eigengärung" bleibt unbeeinflußt, die „Reizgärung" wird gehemmt.

3. Die Wirkung des Natriumfluorids und die Ursache der „Reizgärung".

Es ist bekannt, daß *Natriumfluorid* ähnlich wie die *Halogenessigsäuren*, wenn auch an einer anderen Stelle in der Reaktionskette, den glykolytischen Zuckerabbau zu unterbrechen vermag. Eine m/80 NaF-Konzentration genügt, um die Eigengärung der Hefe deutlich zu hemmen. In dem Versuch der Abb. 7 wird nun, nachdem Fluorid 40 Min. lang auf die Hefe eingewirkt hat, aus dem zweiten birnförmigen Anhang des Reaktionsgefäßes *Kalziumchlorid* eingekippt. Die durch Fluorid ausgeübte Hemmung erweist sich als reversibel: sie läßt sich durch Bindung und Ausfällung der Fluorionen als schwer lösliches Kalziumfluorid auf-

heben. Es kommt dann aber nicht nur zu einem allmählichen Ausgleich des während der Hemmungsperiode dem fluorfreien Gäransatz (K) gegenüber entstandenen Defizits, sondern zu einer unmittelbar nach dem Kalzium-Zusatz einsetzenden fast explosionsartigen, gleichsam entfesselten, überschießenden „Reizgärung", welche z. B. die durch eine 8fach stärkere NaCl-Lösung verursachte um ein Vielfaches übertrifft. Man gewinnt den Eindruck, daß es während einer 40 Min. langen Latenzperiode unter dem Einfluß des Fluorids zur Anhäufung gärfähigen Materials kam, das nach Beseitigung der die Vergärung sperrenden Schranke durch Kalziumchlorid, in stürmisch verlaufender Reaktion vergoren wird. — Die Abb. 8 zeigt die abgestufte Wirkung verschiedener Fluorid-Konzentrationen. Die Gärkurve, welche die *fluoridvergiftete* Hefe nach dem Einkippen von Calciumchlorid gibt, ist derjenigen vergleichbar, die man bei normaler, *unvergifteter* Hefe nach dem Einkippen von Glukose beobachtet (Abb. 9). Die spezifische Hemmungswirkung des Natriumfluorids auf Gärung und Glykolyse geht also anscheinend mit einer *glykogenmobilisierenden* Wirkung einher. Es kann kaum zweifelhaft sein, daß dieser glykogenmobilisierende Mechanismus der Fluoridwirkung auch den übrigen „Reizgärungen" zugrunde liegt, wie sie durch *Schwermetallsalze*, *Jod*, *Arsen*, *hypertonische Salzlösungen* u. a. hervorgerufen werden. Dafür spricht auch, daß nach beendeter „Reizgärung" vorgenommene Anfärbungen des Zellglykogens mit Jod im mikroskopischen Bild eine mehr oder weniger deutliche Abschwächung erkennen lassen. In der erwähnten Arbeit von H. Zeller[3] findet sich schon ein Hinweis darauf, daß es unter dem Einfluß von Giften zu einer Beschleunigung des bei längerem Aufbewahren der Hefe ja auch spontan erfolgenden Glykogenschwundes kommen könne.

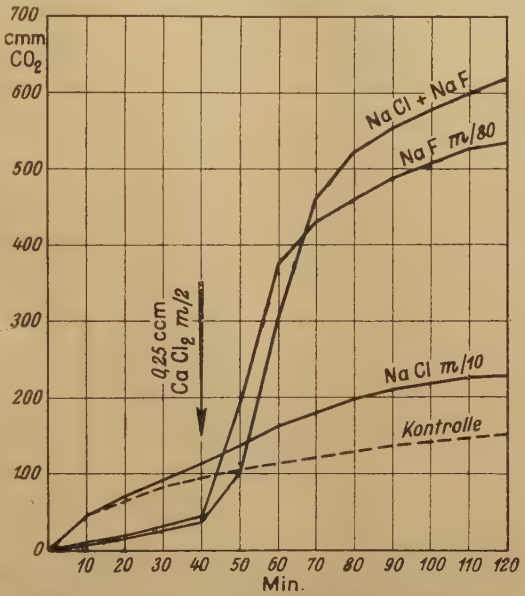


Abb. 7. Hemmung der Gärung durch NaF. Aufhebung der Hemmung durch $CaCl_2$. NaF-„Reizgärung". Addition von NaF- und NaCl-Effekt. (Gärungshemmung und Glykogenmobilisierung durch Fluorid.)

Die *einheitliche Reaktion*, mit der die Hefezelle alle untersuchten, mehr oder weniger unspezifischen Reize beantwortet, bestände demnach

in der *Mobilisierung von Reservematerial*, das damit für eine unmittelbare energetische Ausnutzung bereit gestellt wird. Ob und in welchem Ausmaß diese — die Vergärung des verfügbar gewordenen Zuckers — im Anschluß an die Glykogenmobilisierung stattfindet, wird davon abhängen, ob die zur Mobilisierung von Reservematerial führende Einwirkung den für den Ablauf der energieliefernden Reaktionen erforderlichen Mechanismus intakt ließ oder nicht, ob sie nur einen „Zellreiz"

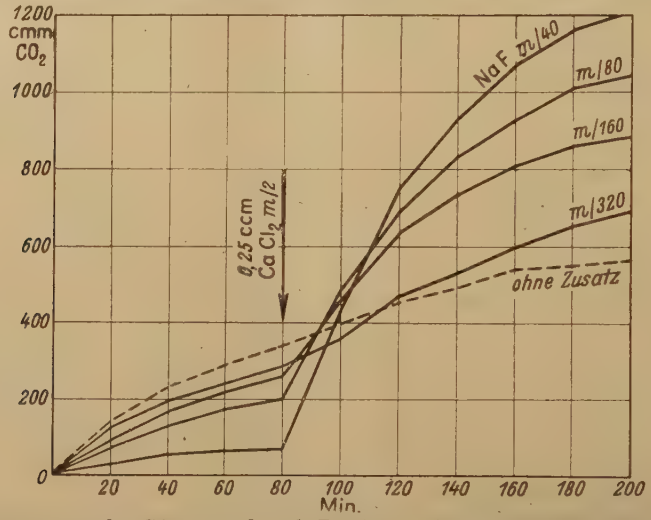


Abb. 8. Hemmung der Gärung und nach Zusatz von $CaCl_2$ manifest werdende „Reizgärung" (Glykogenmobilisation) durch Natriumfluorid. Versuchsansatz (anaerob) Hauptraum: 2,0 ccm Bierhefe (10 %ige Suspension), 1. birnförmiger Anhang: 0,25 ccm NaF m/4—m/32, 2. birnförmiger Anhang: 0,25 ccm $CaCl_2$ m/2.

oder ob sie eine „Zellschädigung" ausübte. Der unter der Einwirkung verschiedenartigster „Reize" zustande kommenden „Reizgärung" liegen somit zwei Reaktionen zugrunde: in einer *Primärreaktion* wird Glykogen mobilisiert, d. h. diastatisch zu Zucker abgebaut, in einer sich anschließenden *Sekundärreaktion* kommt es zur Vergärung des intrazellulär gebildeten Zuckers.

Die Mobilisierung von Glykogen ist die oben zur Erklärung der „Reizgärung" neben der eigentlichen Gärreaktion geforderte und für ihr Zustandekommen erforderliche zweite Reaktion. Die unterschiedliche Giftempfindlichkeit der beiden Reaktionen erklärt die im Vorhergehenden mitgeteilte Beobachtung, daß die durch *stärkere* Reize erzeugte „Reizgärung" unter Umständen schwächer ist als die durch *schwächere* Reize verursachte, daß es unter der stärkeren Reizwirkung gegebenenfalls nur zu einer „abgeschwächten Förderung" der Gärung kommt. Der stärkere Reiz mobilisiert möglicherweise nicht *mehr* Glykogen als ein schwächerer Reiz — in jedem Fall ist seiner Wirksamkeit

durch den Glykogenvorrat der Zelle eine nicht zu überschreitende Grenze gezogen —, dagegen kommt es unter seiner Wirkung zu einer Fermentschädigung der Gärung und damit zu einer Abnahme der „Reizgärung".

Setzt man gleichzeitig mit dem Reizstoff *Zucker* zu, so addiert sich die Vergärung des von außen in die Zelle eindringenden Zuckers zu derjenigen des intrazellulär entstandenen hinzu, wenn der applizierte „Reiz" die Permeabilität der Zellwand für Zucker und das Fermentsystem der Gärung intakt ließ, wenn er keine „Schädigung" verursachte. War der applizierte Reiz zu stark, so kommt es auch jetzt zum Glykogenabbau, die Vergärung des intra- und extrazellulär angebotenen Zuckers ist aber wegen Schädigung des Gärungsfermentes blockiert oder gehemmt: es findet keine *Addition* der Einzeleffekte statt, im Gegenteil kommt es zu einer Abschwächung der Gesamtleistung. Insoweit sich daher die vom „ARNDT-SCHULZschen Gesetz" geforderte gegensätzliche Wirkung schwacher und starker Reize als Förderung oder Hemmung der Hefegärung manifestiert, kommt sie nicht, wie es dem Sinn des „Gesetzes" und der ihm zugrunde liegenden Auffassung entspräche, dadurch zustande, daß *ein und dieselbe Reaktion* — die „Gärung schlechthin" — in Abhängigkeit von der Intensität des einwirkenden Reizes im einen Fall gefördert, im anderen gehemmt würde, sondern dadurch, daß von *zwei* im Verhältnis von „Primär-" und „Sekundärreaktion" zueinander stehenden Vorgängen der *eine*, nämlich die Glykogenmobilisation, sowohl durch starke als schwache Reize „gefördert", also von allen Reizintensitäten *gleichsinnig* beeinflußt wird, der *andere* — die eigentliche Gärung — durch *starke* Reize gehemmt, durch *schwache* Reize nun aber

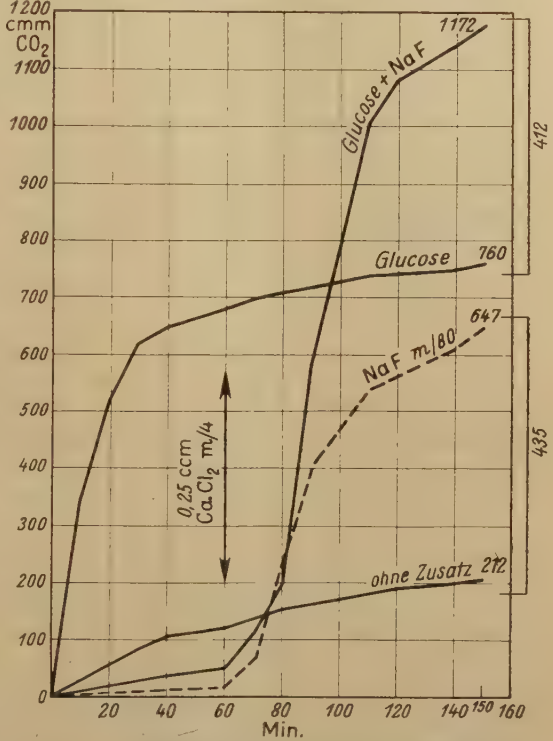


Abb. 9. „Reizgärung" durch NaF nach Aufhebung der Gärhemmung mit $CaCl_2$. Addition von Fluorid- und Glukoseeffekt. Versuchsansatz (anaerob): 2,0 ccm Bierhefe (5 %ige Suspension). 1. Birne: 0,25 ccm NaF m/8 + 0,25 ccm aqua dest. bzw. Glukose 1 %. 2. Birne: 0,25 ccm $CaCl_2$ m/4 (wird nach 60 Min. eingekippt).

nicht etwa gefördert wird, sondern unbeeinflußt bleibt. Die vom „Arndt-Schulzschen Gesetz" behauptete gegensätzliche Beeinflussung biologischer Vorgänge durch starke und schwache Reize, die, wie schon in der Einleitung hervorgehoben wurde, einer apriorischen Vorstellung von dem Abhängigkeitsverhältnis zwischen Reizstärke und Wirkung widerspricht, erweist sich somit an dem von Hugo Schulz zur experimentellen Fundierung des „Gesetzes" herangezogenen Testobjekt, der Hefezelle, und an der von ihm studierten biologischen Reaktion, der Hefegärung, bei einer Analyse der am Zustandekommen des Gesamteffekts beteiligten Einzelreaktionen als eine Täuschung: die „die Lebenstätigkeit anfachende Wirkung" schwacher bzw. nicht zu starker Reize kommt — dem Wirkungsmechanismus nach — nicht dadurch zustande, daß da, wo *starke* Reize hemmen würden, *schwache* Reize fördernd wirken, sondern lediglich dadurch, daß da, wo der starke Reiz hemmt, der schwache Reiz das nicht tut, weil er ohne jede Wirkung bleibt.

4. „Reizgärung" und „Reizatmung".

In den Versuchen, in denen zu einer Suspension von Hefezellen gleichzeitig mit dem Reizstoff Glukose zugesetzt wurde, kam es zu einer *Addition* der durch den Reizstoff ausgelösten „Reizgärung" zu der Vergärung des Zuckers, wenn Gärungsferment und Permeabilität für Glukose intakt geblieben waren. Es ist anzunehmen, daß es im Anschluß

Tabelle 8. *„Reizatmung" durch Sublimat.*

Versuchs-Nr.	Versuchsdauer	2,0 *Bierhefe* (10%) (cmm CO_2 (anaerob)				2,0 *Bierhefe* (10%) (cmm O_2)			
		—	0,25 Hg • Cl_2			—	0,25 Hg • Cl_2		
	Min.		1/1000	1 2000	1 4000		1 1000	1/2000	1/4000
1	35	35	446	360	38	296	180	265	300
		cmm CO_2				cmm O_2			
		—	0,25 Hg • Cl_2			—	0,25 Hg • Cl_2		
			1/8000				1/8000		
2	150	182	580			996	980		
		2,0 *Bäckerhefe* (10%) cmm CO_2 (anaerob)				2,0 *Bäckerhefe* (10%) cmm O_2			
		—	0,25 Hg • Cl_2			—	0,25 Hg • Cl_2		
			1/4000	1/8000	1/16000		1/4000	1/8000	1/16000
3	70	58	165	124	84	970	950	1075	1130

Die Wirkung von Sublimat auf Atmung und Gärung von Bier- und Bäckerhefe. Die Atmung der Bäckerhefe wird gefördert, die Atmung der Bierhefe wird gehemmt oder bleibt unbeeinflußt.

an eine „Reizgärung" und mit ihr vergesellschaftet, zu einer Steigerung der *Atmung* kommt, wenn das Atmungsferment intakt bleibt. Die der „Reizgärung" zugrundeliegende und sie bedingende Mobilisierung von Glykogen zu Zucker bedeutet ja, daß dem *Ferment der Atmung* so gut wie demjenigen der *Gärung intrazellulär* in erhöhtem Maße Substrat angeboten wird, das in gleicher Weise wie *extrazellulär*, von außen zugesetzte und in die Zelle eindringende Glukose unter Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs verbrannt bzw. unter Erhöhung der CO_2-Produktion vergoren werden müßte. Aus den schon erwähnten Untersuchungen Meyerhofs über die verschiedenen Stoffwechseltypen der Hefe und unseren eigenen, in Tabelle 1 und 2 wiedergegebenen Versuchen geht hervor, daß die untergärige *Brauereihefe*, die wir für unsere bisherigen Versuche benutzten, die Fähigkeit, auf Zuckerzusatz mit einer Oxydationssteigerung zu antworten, verloren, daß dagegen die *Bäckerhefe* diese Fähigkeit bewahrt hat. Es war deshalb zu erwarten, daß nur die Bäckerhefe die Applikation von Reizen mit einer „Reizatmung" beantworten würde.

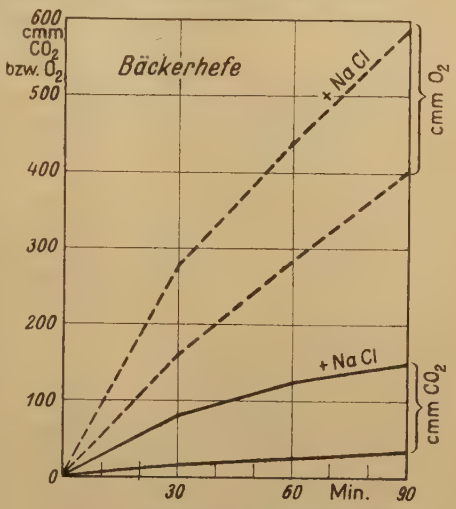


Abb. 10. „Reizgärung" und „Reizatmung" bei Bäckerhefe durch hypertonische NaCl-Lösung. Versuchsansatz: 1,75 ccm Bäckerhefe (10%ige Suspension), 0,25 ccm KH_2PO_4 m/2, 0,5 ccm aqua dest. bzw. 2 molar. NaCl.

Die Abb. 10 zeigt, wie es in einem Versuch mit Bäckerhefe unter dem Einfluß einer *hypertonischen Kochsalzlösung* zu einem deutlichen Atmungsanstieg, einer „Reizatmung" kommt, die der „Reizgärung" parallel verläuft. Aus Versuchen, in denen die Hefe kurze Zeit auf 45—50° C *erwärmt* wurde, geht das unterschiedliche Verhalten von Bier- und Bäckerhefe hervor (Abb. 11). Bei *Bierhefe*, auf die der Wärmereiz 10 Min. eingewirkt hatte, ist die Gärung gegenüber der Kontrolle um fast 500% angestiegen, die Atmung aber erweist sich nach einer anfänglichen, etwa 45 Min. dauernden geringfügigen Stimulierung im weiteren Verlauf des Versuchs als geschädigt. Demgegenüber kommt es bei der *Bäckerhefe* unter dem Einfluß der höheren Temperatur zu einer während der ganzen Versuchsdauer bestehen bleibenden deutlichen Atmungssteigerung, die etwas — nämlich ungefähr 10 Min. — später einsetzt als die „Reizgärung", vermutlich als Ausdruck dafür, daß ein Teil des aus der Glykogenmobilisierung stammenden Zuckers zunächst zu veratembarem Material aufgespalten werden muß, bevor er die in einem erhöhten

Sauerstoffverbrauch sich ausdrückende Atmungssteigerung veranlaßt. Ähnliche Ergebnisse erhält man in Versuchen mit *Phenol*: die „Reiz-

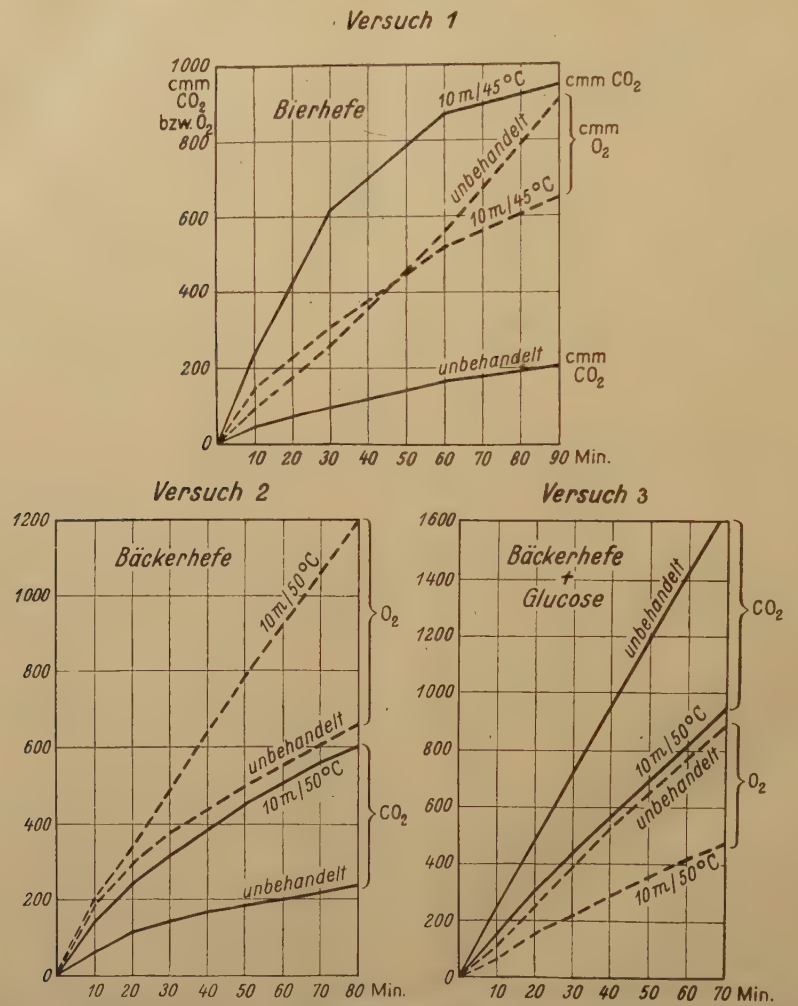


Abb. 11. „Reizgärung“ und „Reizatmung“ nach Wärmereiz (10 Min. 45° bzw. 50° C). Unterschiedliches Verhalten von Bier- und Bäckerhefe. Die Atmung der Bierhefe wird durch den Wärmereiz geschädigt, die Atmung der Bäckerhefe gefördert (Versuch 1 und 2). — Hemmung der Glukosegärung und -atmung (Versuch 3). Versuchsansätze: Versuch 1: 2,5 ccm Bierhefe (10%). Versuch 2: 2,5 ccm Bäckerhefe 10% (Gärung) 5% (Atmung). Versuch 3: 1,75 ccm Bäckerhefe 2%, 0,25 ccm KH_2PO_4 m/2, 0,25 ccm Glukose 10%.

gärungsdosis“ verursacht bei der *Bierhefe* eine starke Hemmung der Atmung, bei der *Bäckerhefe* beobachtet man eine der „Reizgärung“ entsprechende, auch hier wiederum etwas später einsetzende „Reiz-

atmung" (Abb. 12). Auch Sublimat kann bei geeigneter Dosierung fördernd auf die Atmung der Bäckerhefe wirken (Tabelle 8). Bei *Bierhefe* kommt es im allgemeinen mit Giftkonzentrationen, die eine deutliche „Reizgärung" verursachen, zu einer ausgesprochenen Hemmung der Atmung, doch gelingt es mitunter auch bei Bierhefe, wie im Versuch 2 der Tabelle 8, z. B. eine Sublimatdosis zu finden, die trotz einer ausgeprägten Förderungswirkung auf die Gärung die Atmung wenigstens unbeeinflußt läßt. Bemerkenswert ist, daß Giftkonzentrationen bzw.

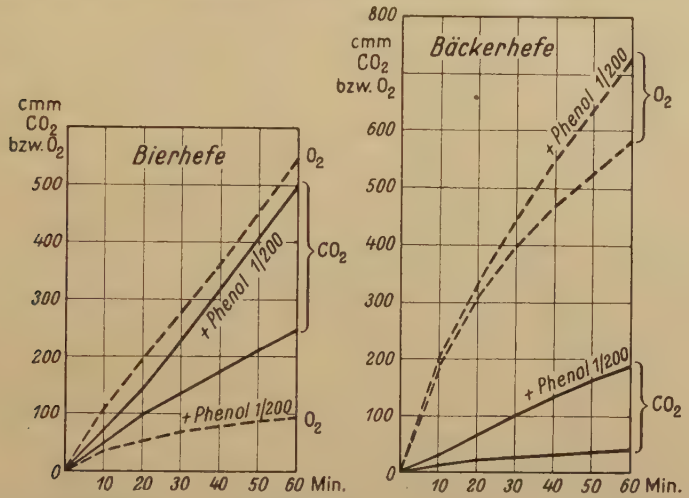


Abb. 12. „Reizgärung" und „Reizatmung" durch Phenol. Die Selbstgärung wird bei Bier- und Bäckerhefe durch Phenol (0,25 ccm 1/20) gefördert, die Atmung bei Bierhefe stark gehemmt, bei Bäckerhefe gefördert. Versuchsansatz: 2,0 ccm Hefe (10%ige Suspension), 0,25 ccm $KH_2 \cdot PO_4$ m/2, 0,25 ccm aqua dest. bzw. Phenol 1 : 20.

Reizintensitäten, die wie in den Versuchen mit Wärmereizen bei Bäckerhefe die beiden energieliefernden Reaktionen fördern, indem sie sowohl *Eigengärung* als *Eigenatmung* steigern, eine starke Hemmung der Veratmung und Vergärung *von außen* zugesetzten Zuckers verursachen (Versuch 3, Abb. 11). Diese Hemmung dürfte auf einer durch den Reiz verminderten Durchlässigkeit der Zellwand für Glukose beruhen.

5. Wiederholte „Reizung": „Zweitschädigung".

In den an *Seeigeleiern* und überlebendem Warmblütergewebe — *Speicheldrüsen, Leber, Hoden* — durchgeführten Untersuchungen Druckreys[9] aus dem Heubnerschen Institut über den „Stoffwechsel des geschädigten Gewebes" werden wie in den klassischen Versuchen Otto Warburgs[12] und späteren Untersuchungen Runnströms[7] *„stoßartige" Atmungssteigerungen* beschrieben als Reaktion auf schädigende Reize,

[12] Warburg, O.: Hoppe-Seylers Z. **57**, 1 (1908); **66**, 305 (1910).

z. B. die Einwirkung hypertonischer Salzlösungen, bestimmter Chininkonzentrationen usw. Die wiederholte Applikation des schädigenden Reizes, eine „Zweitschädigung", hatte im allgemeinen einen weit geringeren Effekt als die „Erstschädigung" und führte, wenn der zeitliche Abstand zwischen Erst- und Zweitschädigung nur gering war, unter Umständen zu einem „katastrophalen Absinken des Stoffwechsels" unter die Norm. Von ausschlaggebender Bedeutung für die Reaktion auf eine „*Zweitschädigung*" war jedoch vor allem die Intensität der

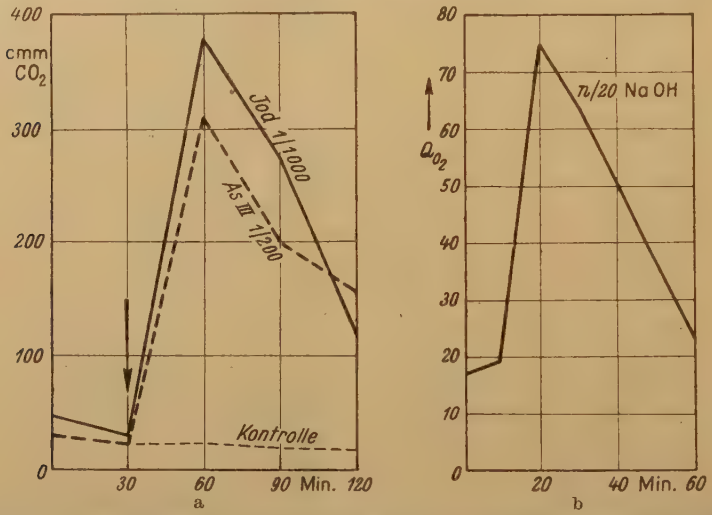


Abb. 13a u. b. a Wirkung von Jod und Arsen auf Brauereihefe (anaerobe Gärung). („Reiz- bzw. Schädigungskurven"). Versuchsansatz: 2,0 ccm Bierhefe (10%), 0,25 ccm KH_2PO_4 m/2. Beim Pfeil wird aus der Birne in den Hauptraum eingekippt: 0,25 ccm Jod 1 : 1000 (als Lugolsche Lösung = Jod 1 : 100) bzw. 0,25 ccm Kal. arsenit 1/20. b Wirkung von NaOH auf befruchtete Seeigeleier (Sauerstoffverbrauch). Aus N. Brock, H. Druckrey und H. Herken: Der Stoffwechsel des geschädigten Gewebes II. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 441 (1938).

„*Erstschädigung*". „War sie klein, so verursachte eine bestimmte zweite Schädigung noch einen sehr kräftigen Anstieg der Atmung, war sie höher, einen entsprechend geringeren, bis nach hohen Dosen überhaupt kein Anstieg mehr auftrat, sondern ein Abfall"[13].

Trägt man in Analogie zu dem Vorgehen Druckreys die in regelmäßigen Zeitabständen, z. B. alle 20 oder 40 Min. gemessenen Stoffwechselwerte — in den Druckreyschen Versuchen Kubikmillimeter O_2, in unseren Versuchen über „Reizgärung" Kubikmillimeter CO_2 — in ein Koordinatensystem ein, so fällt die Ähnlichkeit unserer „*Reizkurven*" mit den Druckreyschen „*Schädigungskurven*" auf; der „stoßartige" Charakter der durch den „Reiz" oder die „Schädigung"

[13] Zit. aus: Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 714 unten (1939).

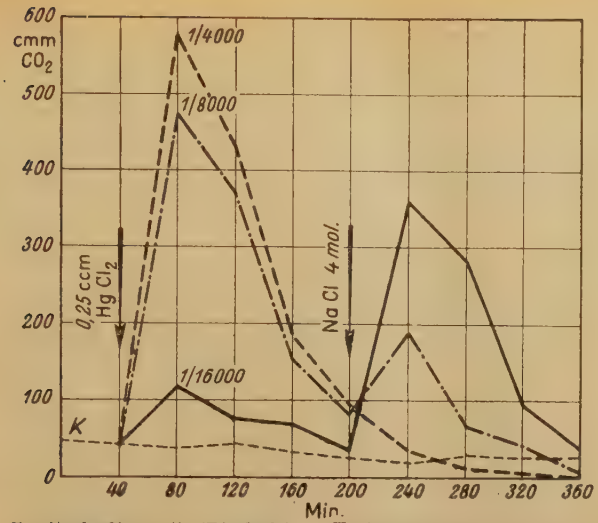


Abb. 14. „Zweitschädigung" (Bierhefe). „Erstschädigung" durch 0,25 ccm $HgCl_2$ 1/4000, 1/8000, 1/16000. „Zweitschädigung" durch 0,25 ccm NaCl 4 molar. Je stärker die „Erstschädigung", um so schwächer der Effekt der „Zweitschädigung". Die mit der hohen Hg-Dosis 1 : 4000 „gereizte" Hefe erweist sich dem NaCl-Reiz gegenüber als refraktär bzw. beantwortet ihn mit einem „Stoffwechselabfall unter die Norm".

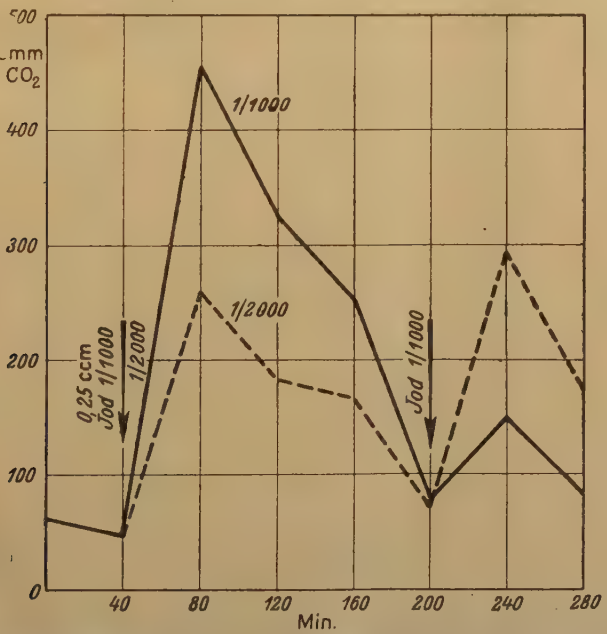
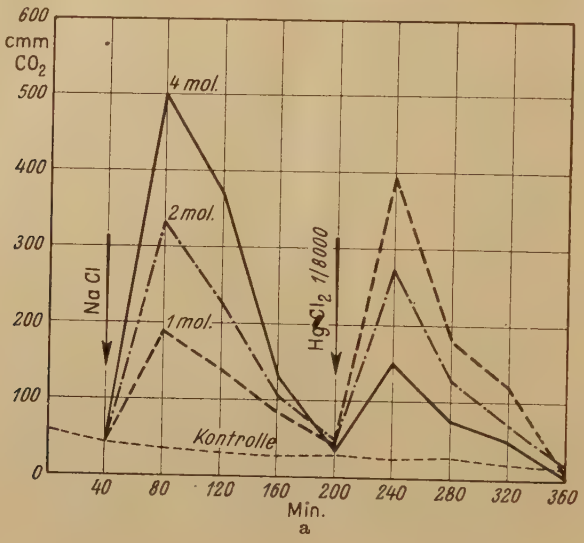
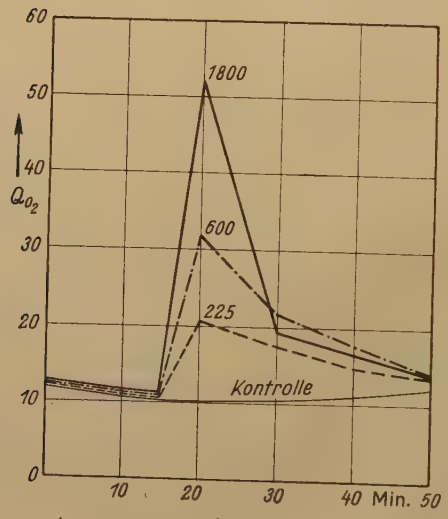


Abb. 15. „Zweitschädigung" durch Jod. (Bierhefe, anaerobe Gärung.) Nach 200 Min. die Wirkung der „Erstschädigung" durch Jod 1 : 1000 und 1 : 2000 ist fast abgeklungen — wird aus dem zweiten birnförmigen Anhang des WARBURG-Gefäßes 0,25 ccm Jod 1 : 1000 zu der im Hauptraum befindlichen Hefesuspension zugekippt.

verursachten Stoffwechselsteigerung, des Atmungs- bzw. Gärungsanstiegs, kommt dann besonders gut zum Ausdruck (Abb. 13). Die abgestufte



a



b

Abb. 16a u. b. a Wirkung verschieden konzentrierter NaCl-Lösungen auf die anaerobe Eigengärung von Hefezellen. — „Zweitschädigung" durch Sublimat. Versuchsansatz: 2 ccm Bierhefe. 1. Anhang: Erstschädigung mit 0,25 ccm NaCl 1 molar., 2 molar., 4 molar. 2. Anhang: Zweitschädigung mit 0,25 ccm $HgCl_2$ 1 : 8000. Abgestufte Wirkung der verschiedenen NaCl-Konzentrationen. Je schwächer die Erst-, um so stärker die Wirkung der Zweitschädigung. b Wirkung verschiedener Konzentrationen eines die Zellteilung hemmenden Faktors aus dem Hypophysenvorderlappen (in mg/Liter) auf die Atmung befruchteter Seeigeleier. Aus N. Brock, H. Druckrey und H. Herken: Der Stoffwechsel des geschädigten Gewebes II. Naunyn-Schmiedebergs Arch. 188, 446 (1938).

Wirksamkeit verschieden stark dosierter „Reize", z. B. verschiedener Sublimat-, Jod- oder Natriumchloridkonzentrationen prägt sich in den „Reiz-" und „Schädigungskurven" aus (Abb. 14, 15, 16). Läßt man nun nach voraufgegangener und abgeklungener Erstreizung oder Erstschädigung einen zweiten Reiz einwirken, so hängt der Reizerfolg von der *Intensität* des zuerst applizierten Reizes ab: je größer diese war, um so kleiner ist die Wirkung jetzt und umgekehrt. War die

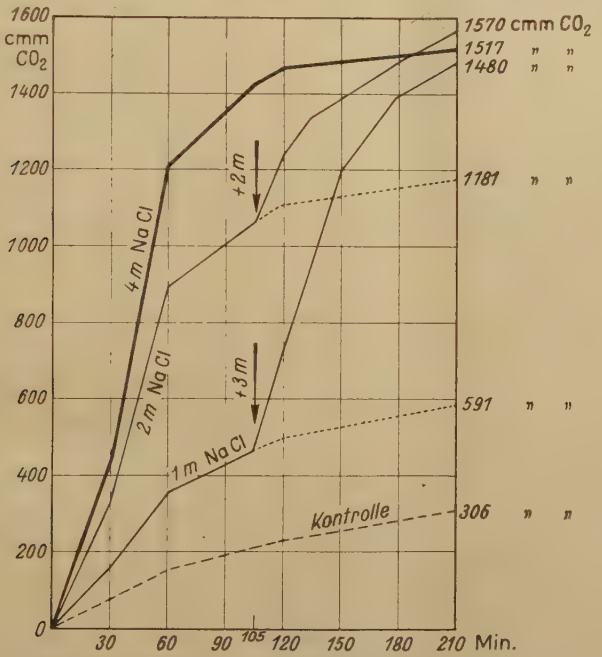


Abb. 17. Erst- und Zweitschädigung mit NaCl (Brauereihefe, anaerobe Gärung). Addition der Einzeleffekte. Komplettierung schwächerer Wirkungen zur Maximalwirkung. 1 molar. NaCl + 3 molar. NaCl = 4 molar. NaCl, 2 molar. NaCl + 2 molar. NaCl = 4 mol. NaCl.

Wirkung des zuerst gesetzten Reizes eine maximale oder war die Intensität der „Erstschädigung" sogar größer als notwendig gewesen wäre, um eine maximale Wirkung zu erzielen, wie vielleicht bei der Dosierung $HgCl_2$ 1 : 4000 der Abb. 14, so veranlaßt die Zweitschädigung überhaupt keinen Stoffwechselanstieg mehr, sondern führt zu dem schon erwähnten Absinken der Stoffwechselwerte unter die Norm. In solchen Fällen entsteht der Eindruck, als werde mit dem zweiten Reiz sozusagen die „*Reizkapazität*" der Zelle überschritten. Inwiefern dieser Charakterisierung als einer „Überschreitung der Reizkapazität" nicht nur die Bedeutung eines Versuchs *symbolhafter Andeutung* eines nicht exakter definierbaren Tatbestandes, sondern eine *reale* quantitativ faßbare *Grundlage* zukommt, zeigen Versuche, in denen die

Wirkungen der Zweitschädigungen als *additive Effekte* zahlen- und kurvenmäßig zur Darstellung gebracht werden (Abb. 17 und 18). Es zeigt sich hierbei, daß im Bereiche submaximaler Wirkungen der Effekt einer Erstreizung sich durch die Applikation eines zweiten Reizes zur Maximalwirkung *komplettieren* läßt: so wird im Versuch der Abb. 17 mit NaCl die Wirkung einer *1 molaren* NaCl-Lösung durch nachträgliches Einwirkenlassen einer Lösung *dreifacher* Molarität fast genau zur Wirkungsgröße der *4fach molaren* Lösung gesteigert; bei der Erstreizung durch 2 molar NaCl genügt eine Zweitreizung durch die gleiche Dosis, um dasselbe Ziel zu erreichen. Die Abb. 18 zeigt ähnliche Ergebnisse in einem Versuch mit *Sublimat*: die Wirkung der $HgCl_2$-Konzentration 1 : 80000 wird mit Hilfe der gleichen Dosis als „Zweitreiz" zur Wirkungsstärke der doppelt so starken Sublimatdosis von 1 : 40000 komplettiert. Die hohe Dosis von 1 : 20000 hingegen, die eine schwächere Wirkung hat als die niedrigere Dosierung 1 : 40000, erweist sich auch dadurch als „Schädigungsdosis", daß die mit ihr vorbehandelte Zelle sich einer „Zweitschädigung" gegenüber refraktär verhält, d. h. sie nicht mit einem erneuten Gärungsanstieg beantwortet.

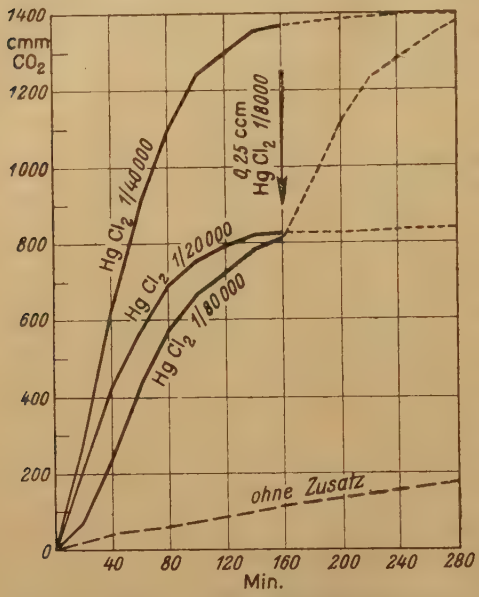


Abb. 18. Erst- und Zweitschädigung nach Sublimat (Bierhefe, anaerobe Gärung). Die Wirkung einer schwachen „Reizdosis" — $HgCl_2$ 1 : 80000 (= Zusatz von 0,25 ccm $HgCl_2$ 1 : 8000) — läßt sich durch nachträgliche, 160 Min. später erfolgende Applikation der gleichen Dosis („Zweitschädigung") zur Wirkung der höheren Konzentration 1 : 40000 „komplettieren". — Die „Schädigungsdosis" 1 : 20000 hat die Hefe gegen eine „Zweitschädigung" refraktär gemacht.

6. „Zellreiz" und „Zellschädigung": „Erregungs"- und „Schädigungsstoffwechsel".

Die Einwirkung verschiedenartigster chemischer und physikalischer „Reize" wird, wie sich im Vorhergehenden zeigte, von der Hefezelle mit einer einheitlichen Reaktion beantwortet: Mit der *Mobilisierung von Reservematerial*. Ob der Sinn und Zweck dieser Reaktion, Substrat zur Gewinnung von Energie bereit zu stellen, erfüllt wird, hängt davon ab, ob die hierfür zur Verfügung stehenden und notwendigen Einrich-

tungen funktionsfähig geblieben sind. Ist das der Fall, so schließt sich an die Primärreaktion der *Mobilisierung* als Sekundärreaktion eine *Stoffwechselsteigerung* an — ein Anstieg der Gärung und Atmung. Das Ausmaß dieser Stoffwechselsteigerung ist innerhalb eines bestimmten Dosierungsbereiches der Reizstärke proportional. Wird die optimale Reizstärke überschritten, so resultiert eine kleinere Stoffwechselsteigerung, die dann schließlich bei der Einwirkung noch stärkerer Reize einem Absinken des Stoffwechsels unter die Norm Platz macht. Wollte man versuchen, von der Grundlage dieser Beobachtungen aus zu der alten Frage nach Beziehungen zwischen „*Erregung*" und „*Schädigung*" Stellung zu nehmen, so ließe sich etwa folgendes sagen: solange eine die Zelle treffende Einwirkung sich darauf beschränkt, die als Primärreaktion gekennzeichnete Mobilisierung von Glykogen auszulösen, ohne die „physiologischerweise" als Sekundärreaktion sich anschließende energetische Verwertung des anfallenden Zuckers zu behindern, wäre sie als „*physiologischer Reiz*", als „*Erregung*" anzusprechen. Der Übergang von Erregung zu „*Schädigung*[77] würde in dem Augenblick vollzogen, in dem es zu einer Beeinträchtigung der energetischen Verwertung, der Veratmung oder Vergärung des bereitgestellten Zuckers käme, so daß die den Erregungsstoffwechsel charakterisierende Stoffwechselsteigerung kleiner würde, ausbliebe oder gar in eine Stoffwechselsenkung umschlüge.

Unsere Versuche hatten nun aber weiterhin ergeben, daß häufig auch solche Reizintensitäten, die nach der soeben vorgenommenen Einteilung als „*physiologische Erregungen*" zu werten gewesen wären, schon genügten, um die Zellwandpermeabilität so zu beeinflussen, daß die Verwertung von außen angebotener Nährstoffe empfindlich gestört, die vitale Leistungsfähigkeit der Zelle also fraglos herabgemindert war. Weitere Untersuchungen, in denen die gereizten Zellen in eine geeignete Nährlösung* verimpft und nach 20—24stündiger Bebrütung bei 25° C in der Thoma-Zeiss-Kammer ausgezählt wurden, zeigten, daß solche zunächst noch als „physiologisch" anmutenden Reizwirkungen mehr oder weniger starke *Wachstumshemmungen* verursachten. Die Gesamtwertung der mit einer Beeinflussung verschiedener Zellfunktionen verbundenen „Reizwirkungen" führt somit zu dem Ergebnis, daß Giftkonzentrationen, welche an Hefezellen eine „*Reizgärung*" und eine „*Reizatmung*" hervorrufen, in vielen Fällen gleichzeitig andere Zellfunktionen schädigen, daß daher, in Übereinstimmung mit den eingangs erwähnten Untersuchungen Warburgs, Runnströms und Druckreys über stoßartige Erhöhungen des Sauerstoffverbrauchs von Seeigeleiern und

* Hayduksche Lösung: 2,5 g Asparagin, 100 g Saccharose, 50 ccm Mineralsalzlösung, Aqua dest. ad 1000 ccm. — (Mineralsalzlösung: 50 g $KH_2 \cdot PO_4$, 17 g $Mg \cdot SO_4$, Aqua dest. ad 1000 ccm).

überlebendem Gewebe unter der Einwirkung *schädigender* Reize, vielleicht auch die von uns beobachtete „Reizgärung" und „Reizatmung" der Hefezelle wenigstens in einem Teil der Fälle als *Stoffwechselreaktion einer geschädigten Zelle* anzusehen ist. Die einer Arbeit von Brock, Druckrey und Herken entnommenen beiden Kurven der Atmungssteigerung „geschädigter" Seeigeleier zeigen einen ganz ähnlichen Verlauf wie unsere Kurven der Gärungssteigerung „gereizter" Hefezellen (Abb. 13b und 16b).

7. Der Mechaninismus der Stoffwechselsteigerung.

Die Frage nach dem *Mechanismus* der in ihren Versuchen mit Seeigeleiern durch die Wirkung unspezifischer Reize verursachten *Atmungssteigerungen* wird von Brook, Druckrey und Herken folgendermaßen zu beantworten versucht: in Analogie zu der aus den Untersuchungen anderer Autoren bekannten Parallelität von *Oxydationssteigerung* und *Permeabilitätserhöhung* bei der Befruchtung des Seeigeleies komme es auch unter der Einwirkung unspezifischer Reize zu einer erhöhten Membrandurchlässigkeit, die dann auf dem Wege eines erleichterten Stoffaustausches die beobachteten Atmungssteigerungen ermögliche und erkläre. Außerdem führe die Einwirkung der untersuchten Reizstoffe zu einer *Entquellung des Eiweißes* im Zellinnern und begünstige damit die Ausbildung der für die Atmung wichtigen Strukturen.

Die Ursache der von uns an Hefezellen beobachteten Stoffwechselsteigerungen ist, wie wir gezeigt haben, die Mobilisierung von Glykogen zu Zucker, der — intrazellulär entstanden — in gleicher Weise wie bei einem extrazellulär, von außen erfolgenden Zuckerangebot zu einem Gärungs- und Atmungsanstieg führen muß. Zur Erklärung der in unseren Versuchen auftretenden Stoffwechselsteigerungen ist es deshalb nicht notwendig, *Änderungen* der Membrandurchlässigkeit oder die Neubildung fermentaktivierender Oberflächen anzunehmen, da bei *unveränderter* Zellwandpermeabilität und unveränderter Zellstruktur die *normale* Aktivität der vorhandenen Fermentsysteme genügt, um bei erhöhtem intrazellulärem Substratangebot die beobachtete Stoffwechselsteigerung zustande kommen zu lassen. Für uns reduziert und präzisiert sich die Frage nach dem *Mechanismus der Stoffwechselsteigerung* zu der Frage nach dem *Mechanismus der Glykogenmobilisation*. Zur Beantwortung dieser Frage möchten auch wir die vielleicht allen von uns angewandten unspezifischen Reizen, den Quecksilber-, Blei-, Kupfer-, Zink- und Silberionen, der Ameisensäure und dem Bichromat, dem Wärme- und Strahlenreiz und den hypertonischen Salzlösungen gemeinsam zukommende Eigenschaft in Anspruch nehmen, *entquellend auf Eiweiß* zu wirken, aber nicht, um diesen eiweißentquellenden Effekt durch Ausbildung neuer Strukturen oberflächenkatalytische

Wirkungen und Fermentaktivierungen ausüben zu lassen, sondern um durch ihn ferment- und substratbeladene Oberflächenstrukturen „*schrumpfen*" zu lassen, so daß sie die bisher *adsorptiv gebundenen* und *räumlich getrennten* Glykogen- und Diastasefermentmengen nicht mehr halten können, sie freigeben und dadurch die Mobilisierung zu Zucker ermöglichen. Diese Auffassung vom Mechanismus der Glykogenmobilisation und der Stoffwechselsteigerung fände ihr Analogon in heute vielleicht nicht mehr ganz haltbaren Vorstellungen vom Mechanismus der Adrenalinwirkung auf das Leberglykogen, wie sie vor mehreren Jahrzehnten einmal von Lesser entwickelt wurden.

In der vierten Mitteilung der mehrfach erwähnten Untersuchungen von Brock, Druckrey und Herken über den „Stoffwechsel des geschädigten Gewebes" ist der Verlauf eines Versuches, in dem verschieden große *Saponindosen* auf eine Suspension befruchteter *Seeigeleier* einwirken, kurvenmäßig dargestellt. Die kleinere Dosis von 100 γ verursacht eine Oxydationssteigerung um mehr als 500%, die größere Dosis von 500 γ bewirkt — als *Erstschädigung!* — nicht eine Oxydations-*Hemmung*, sondern eine *verminderte Steigerung*, die ungefähr 250% beträgt. Dieses Verhalten entspricht der von uns an Hefezellen gemachten und auf Seite 256 beschriebenen Beobachtung „*abgeschwächter Förderungen*" durch mittelstarke Reize oder Giftkonzentrationen. Wir haben ausführlich dargelegt, weshalb wir glauben, daß in diesen „abgeschwächten Förderwirkungen" die Resultanten zweier gegensinnig beeinflußter Reaktionen zu sehen sind, von denen *die eine* — die Glykogenmobilisierung — von dem gleichen Reiz *gefördert* wird, von dem *die andere* — die energieliefernde Abbaureaktion: Gärung oder Atmung — *gehemmt* wird.

Hiermit drängt sich die Frage auf, ob man nicht für die Erklärung der am *Seeigelei* und an *Warmblütergeweben* auftretenden und als charakteristisch für den „Stoffwechsel des geschädigten Gewebes" bezeichneten *Atmungssteigerung* auf die ja doch wohl recht hypothetische Annahme der Ausbildung katalytisch wirksamer und fermentaktivierender Oberflächen verzichten könne und auch hier die Primär- und Elementarreaktion, mit der die Zelle den unspezifischen Reiz oder die Schädigung beantwortet, in der *Mobilisierung von Reservematerial* erblicken dürfe, das damit *automatisch* der energieliefernden fermentativen Weiterverarbeitung überantwortet würde.

Zusammenfassung.

1. Bei der Einwirkung verschiedenartigster *chemischer* und *physikalischer* „*Reize*" auf Suspensionen von Bier- oder Bäckerhefe in Leitungswasser oder Phosphatlösung kann es innerhalb bestimmter Dosierungsbereiche zu *Gärungsanstiegen* von mehreren hundert Prozent kommen.

Setzt man den Gäransätzen Zucker zu, so addiert sich die zur „Reizgärung" gesteigerte Selbstgärung der Hefe zu derjenigen des zusätzlich angebotenen Zuckers, wenn der applizierte Reiz nicht zu stark war. Anderenfalls kommt es in Abhängigkeit von der Reizstärke zu mehr oder weniger starken Hemmungen der Gärung, die vermutlich auf einer Verminderung der Membrandurchlässigkeit und auf einer Schädigung des Gärungsfermentes beruhen.

2. Bei *Bäckerhefe*, die im Gegensatz zu Bierhefe extrazellulär angebotenen Zucker unter Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs veratmet, geht — ebenfalls im Gegensatz zur Bierhefe — der durch unspezifische Reize verursachten „Reizgärung" eine „*Reizatmung*" parallel.

3. Hebt man die mit *Natriumfluorid* erzeugte Hemmung der Selbstgärung durch Zufügen von Kalziumionen auf, so entwickelt sich in beschleunigtem Reaktionsablauf eine die „Eigengärung" um mehrere hundert Prozent übersteigende „Reizgärung". Das spezifische *Gärungsgift* Fluorid veranlaßt wie die anderen unspezifischen „Hefegifte" eine *Mobilisierung von Glykogen* und dadurch eine Erhöhung des intrazellulären Glukoseangebotes, auf das die Zelle, wenn ihr Fermentapparat durch das Gift nicht beeinträchtigt wurde, mit einer Gärungs- und Atmungssteigerung reagiert. Die „Elementar- und Primärreaktion", mit der die Einwirkung unspezifischer Reize beantwortet wird, besteht demnach in der Mobilisierung von Reservematerial, das dann in einer sich anschließenden „Sekundärreaktion" vergoren und veratmet wird.

4. Die in unseren Versuchen beobachtete, der Forderung des „Arndt-Schulzschen Gesetzes" und den von Hugo Schulz mit Hefegiften erhaltenen Versuchsergebnissen entsprechende „*gegensätzliche Wirkung*" starker und schwacher „Reize", hoher und niedrigerer Giftdosen auf die Gärung findet ihre Erklärung darin, daß von den *beiden* der „Reizgärung" zugrundeliegenden Reaktionen die *eine*, nämlich die Mobilisierung von Glykogen, sowohl durch starke als auch durch schwächere „Reize" ausgelöst und „gefördert" wird, die *andere*, nämlich die Vergärung des anfallenden Zuckers, aber nur durch starke Reize „gehemmt" oder aufgehoben wird, durch schwächere Reize hingegen unbeeinflußt bleibt. Die Förderwirkung schwacher Reize kommt deshalb nicht, wie es der naturwissenschaftliche Sinn des „Gesetzes" verlangen würde, dadurch zustande, daß ein schwächerer Reiz da, wo der stärkere lähmend wirkt, *stimuliert*, sondern lediglich dadurch, daß er die Reaktion, welche der starke Reiz hemmt, *unbeeinflußt* läßt.

5. Die Frage nach dem *Mechanismus der Glykogenmobilisierung* wird zu beantworten versucht unter Hinweis auf die allen angewandten unspezifischen Reizen gemeinsame wasserentziehende, *eiweißentquellende* Wirkung, von der angenommen wird, daß sie eine Verkleinerung, —

eine „Schrumpfung" intrazellulärer Oberflächenstrukturen verursacht und dadurch zu einem Freiwerden bisher in adsorptiver Bindung und räumlicher Trennung gehaltener Ferment- und Substratmengen — Diastase- und Glykogenmengen — führt.

6. Nach Erörterung der sich ergebenden Beziehungen zwischen „*Erregung*" und „*Schädigung*" wird die Frage aufgeworfen, ob der von anderen Autoren an *Seeigeleiern* und an überlebendem *Warmblütergewebe* nach Einwirkung unspezifischer Schädigungen beobachteten und als charakteristisch für den „Stoffwechsel des geschädigten Gewebes" bezeichneten *Atmungssteigerung* der gleiche Mechanismus zugrunde liege wie der „Reizgärung" und „Reizatmung" der *Hefezelle* in unseren Versuchen.

Fräulein Ursula Hempel und Herrn stud. med. Hans-Erich Rebeski danken wir für verständnisvolle Mitarbeit.

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering A.G., Berlin.

Einiges über Impftumoren *.

Von

K. Junkmann.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Im Nachstehenden soll ein Zahlenmaterial mitgeteilt werden, das im Rahmen von Versuchen über die therapeutische Beeinflussung verschiedener Impftumoren in den Jahren 1935—1943 angefallen ist. Die Veröffentlichung ist bisher unterblieben, da in vielen Fällen Ergänzungen wünschenswert gewesen wären. Durch die äußeren Einflüsse der letzten Jahre ist jedoch eine Fortführung dieser Untersuchungen in absehbarer Zeit unwahrscheinlich, und ich glaube daher, die Veröffentlichung rechtfertigen zu können.

Für die Beurteilung des Erfolges therapeutischer Eingriffe bei verschiedenen Impftumoren ist die Kenntnis des normalen Verhaltens dieser Geschwülste Voraussetzung. Ich habe mich daher bemüht, im Laufe der Jahre möglichst umfangreiche Erfahrungen zu gewinnen.

Versuchstechnik.

Zur Verfügung standen folgende Impftumoren:

1. Jensen-Sarkom der Ratte,
2. Flexner-Karzinom der Ratte,
3. Walker-Karzinom der Ratte,
4. Ehrlichsches Mäusekarzinom Aszitesform,
5. Brown-Pearce-Karzinom des Kaninchens.

Hinsichtlich der *Impftechnik* sei folgendes vorausgeschickt:

Die Impfungen erfolgten teils subkutan unter Verwendung von Tumorstückchen oder von Tumorbrei, teils intraperitoneal, ebenfalls in Stückchen oder Breiform. Zur Verimpfung des Ehrlichschen Karzinoms wurde zellreicher Aszites in geeigneter Verdünnung intraperitoneal injiziert. Das Brown-Pearce-Karzinom wurde in Breiform in den Hoden verimpft. Zur Verimpfung wurden makroskopisch nekrosenfreie Tumorteile oder am liebsten möglichst solide nekrosenfreie Tumoren verwendet. Meist wurde die Sterilität des Impfmaterials durch Kulturen kontrolliert. Zur Stückchenimpfung wurde das kurz nach der Tötung entnommene Material mit Skalpell und Schere in kleine Stückchen

* Herrn Professor Dr. W. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

zerschnitten, die in eine Kanüle eingelegt wurden. Unter aseptischen Bedingungen wurde der Troikart subkutan oder intraperitoneal eingeführt und das Impfmaterial mit Hilfe eines Mandrins an die gewünschte Stelle geschoben. Subkutane Verimpfungen erfolgten an den Flanken der Ratte. Die Menge des normalerweise verimpften Tumormaterials wurde nach dem Augenmaß bemessen. Sie betrug durchschnittlich 100—120 mg.

Bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse haben wir uns darauf beschränkt, zwischen positivem und negativem Impferfolg zu unterscheiden. Dabei zählten alle Tiere, bei denen der Impftumor binnen kurzer Zeit und ohne erhebliches Wachstum heilte, als negativ, ebenso alle solche, bei denen von vornherein eine Resorption des subkutan oder intraperitoneal verabreichten Impfmaterials stattgefunden hatte. Bei der Berechnung der Impfausbeute wurden ferner alle Tiere ausgeschaltet, die im Laufe der Versuche vorzeitig verstarben, bei denen also eine Beurteilung, ob das Implantat tatsächlich angegangen war, nicht nöglich war.

Ergebnisse.

Die subkutanen Verimpfungen der verschiedenen Rattentumoren ergab folgendes Bild:

Tabelle 1.

Tumor	Zahl der Tiere	Impfausbeute	
		positiv %	negativ %
Jensen	5194	84,4	15,6
Walker	2376	64,7	35,3
Flexner	4799	58,4	41,6

Die intraperitoneale Verimpfung des Ehrlichschen Mäusekarzinoms (verimpft wurde jeweils 0,5 ccm = 25 000 000 Zellen 1:3 verdünnter zellreicher Aszites) hatte folgendes Ergebnis:

Tabelle 2.

Tumor	Zahl der Tiere	Impfausbeute	
		positiv %	negativ %
Ehrlich	5862	95,7	4,3

Beim Brown-Pearce-Karzinom wurde in 32 Versuchen eine Häufigkeit des Angehens von 80% festgestellt.

Die Frage des Einflusses des Implantationsortes wurde am Jensen-Sarkom studiert. Dabei wurde die Impfausbeute nach subkutaner oder intraperitonealer Verimpfung von Tumorstückchen und nach intrakutaner Injektion von Tumorbrei verglichen. Das Ergebnis ist folgendes:

Tabelle 3.

Impftechnik	Zahl der Tiere	Impfausbeute	
		positiv %	negativ %
Subkutan in Stückchen	5194	84,4	15,6
Subkutan als Brei	377	79,0	21,0
Intraperitoneal in Stückchen	860	94,5	5,5
Intrakutan als Brei	741	48,4	51,6

Die Überlegenheit der intraperitonealen Verimpfungsform in Stückchen ist eindeutig.

Die einzelnen Impftumoren unterscheiden sich auch hinsichtlich der durchschnittlichen Lebensdauer der damit beimpften Tiere. Ich habe aus unserem Versuchsmaterial von dem JENSEN-, FLEXNER-, WALKER- und EHRLICH-Tumor jeweils 500 Tiere wahllos herausgegriffen, die im Laufe der Versuche nicht vorzeitig gestorben sind oder

Tabelle 4.

Lebensdauer	Zahl der zu diesem Zeitpunkt gestorbenen Tiere bei				Lebensdauer	Zahl der zu diesem Zeitpunkt gestorbenen Tiere bei			
Tage	JENSEN	FLEXNER	WALKER	EHRLICH	Tage	JENSEN	FLEXNER	WALKER	EHRLICH
6	0	0	0	3	34	13	23	2	
7	1	0	0	2	35	3	12	2	
8	1	0	0	2	36	3	7	1	
9	0	0	0	11	37	4	8	0	
10	2	1	0	20	38	6	17	1	
11	0	0	0	15	39	2	10		
12	0	0	1	30	40	3	12		
13	6	1	12	69	41	3	3		
14	13	1	35	62	42	0	8		
15	10	2	52	75	43	0	3		
16	19	11	63	65	44	0	11		
17	12	6	50	33	45	0	2		
18	17	12	50	36	46	1	7		
19	17	16	45	25	47	0	3		
20	17	9	39	15	48	2	0		
21	36	25	31	14	49		8		
22	34	16	25	15	50		2		
23	31	16	19	4	51		2		
24	42	16	15	0	52		2		
25	32	26	9	2	53		1		
26	44	20	14	0	55		3		
27	18	28	13	1	56		1		
28	32	40	5	3	58		1		
29	20	25	6		60		1		
30	13	22	1		61		2		
31	16	14	5		62		2		
32	10	9	2		68		2		
33	17	30	2		79		1		
					Mittel:	23	27	19	14 Tage

getötet wurden, die vielmehr sichtlich am Tumor zugrundegegangen sind. In der vorstehenden Tabelle ist die an jedem einzelnen Tag nach der Beimpfung verstorbene Anzahl von Tieren für die verschiedenen Tumorarten angegeben und am Schluß daraus die mittlere Lebensdauer berechnet. Bemerkt sei, daß die Rattentumoren als Stückchen subkutan verimpft waren, während das Ehrlich-Karzinom durch intraperitoneale Injektion von Aszites erzeugt wurde.

Es wurde weiter der Einfluß der Quantität des Impfmaterials auf den Impferfolg studiert. Derartige Versuche sind besonders gut mit Hilfe des Mäuse-Aszitestumors durchzuführen, da die verimpfte Zellzahl ein recht genaues Maß der verwendeten Tumormenge darstellt. Es wurden daher abgestufte Aszitesverdünnungen verschiedenster Herkunft

Tabelle 5.

Aszitesverdünnung x:100	Zahl der verimpften Zellen			Zahl der Tiere	Impfausbeute	
	Maximum	Minimum	Mittel		positiv %	negativ %
1,6 :100	1720000	624000	990000	134	88,8	21,2
0,8 :100	844000	304000	492000	162	87,7	22,3
0,2 :100	164000	89000	126000	201	62,2	37,8
0,1 :100	57000	29000	43000	234	79,1	20,9
0,05 :100	31000	4000	19000	218	68,8	31,2
0,02 :100	23000	1000	10000	184	51,6	48,4
0,01 :100	7000	3000	5000	96	41,7	58,3
0,005 :100	3000	200	1600	362	29,8	70,2
0,0013:100	1000	300	650	199	34,7	65,3
0,0006:100	228	16	146	78	2,6	97,4

Tabelle 6.

Tumor	mg verimpft	Zahl der Tiere	Impfausbeute	
			positiv %	negativ %
Jensen	0,032	182	2,7	97,4
	0,125	198	3,5	96,5
	0,25	156	16,0	84,0
	0,5	183	38,3	61,7
	1,0	112	40,3	59,7
	2,0	172	70,9	29,1
	8,0	186	79,0	21,0
	32,0	191	79,0	21,0
Flexner.	5,0	101	61,4	38,6
	10,0	71	83,1	16,9
	20,0	98	88,8	11,2
	40,0	94	75,6	24,4
	80,0	90	82,2	17,8
Walker	5	90	45,5	54,5
	10	82	85,4	14,6
	20	79	91,1	8,9
	40	76	93,4	6,6
	80	123	87,8	12,2

injiziert. Dieses Vorgehen bedingt eine gewisse Streuung der zur Verimpfung gelangenden Zellzahlen, gestattet aber doch die Abhängigkeit des Impferfolges von der Menge des beigebrachten Tumormaterials zu beurteilen. Das Ergebnis ist in Tabelle 5 dargestellt.

Versuche über Beziehung zwischen Quantität des Impfmaterials und Impfausbeute bei den Rattentumoren wurden durch subkutane Injektionen von Tumorbrei angestellt. Dazu wurden die Tumoren mit bekannten Mengen physiologischer Kochsalzlösung durch ein Sieb gerührt und durch anschließende Wägung die von der Kochsalzlösung aufgenommene Tumorzellmenge festgestellt. Entsprechende Verdünnungen dieser Suspensionen wurden zur Impfung verwendet (s. Tab. 6).

Tabelle 7.

Impfmenge mg	Prozentsatz der gestorbenen Tiere nach Wochen				
	2	3	4	5	6
5	0,0	0,0	3,3	26,6	34,4
10	0,0	3,7	28,1	74,4	81,7
20	1,3	5,0	55,5	82,3	83,5
40	0,0	43,4	81,6		
80	0,8	34,1	78,1		

Die Lebensdauer der Versuchstiere bei verschieden massiver Impfung ist ebenfalls deutlich von der Implantatmenge abhängig. Als Beispiel sei das Verhalten der mit Walker-Karzinom infizierten Tiere dargestellt.

Die Beobachtung, daß der Prozentsatz der Impfmißerfolge bei Verwendung infizierter Impftumoren größer ist als bei Verwendung sterilen Impfmaterials gab Veranlassung, diesem Punkt besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden. Als häufigste Infektion wurden neben der mit Gärtner-Bazillen die Infektion mit einem nicht hämolysierenden Streptokokkus, der für Ratten nicht sicher pathogen war, beobachtet.

Tabelle 8.

Tumor	Impfmaterial	Zahl der Tiere	Impfausbeute	
			positiv %	negativ %
Jensen . .	steril	2816	82,2	17,8
	mit Gärtner infiziert	384	71,6	28,4
	mit Kokken infiziert	1000	86,6	13,4
Flexner . .	steril	3938	59,4	40,6
	mit Gärtner infiziert	400	40,2	59,8
	mit Kokken infiziert	57	42,2	57,8

Der Einfluß der Insterilität des Impfmaterials ist demnach, mindestens soweit er diese beiden Infektionen betrifft, nicht sehr bedeutend. Anfänglich schien es, als ob besonders die Infektion mit Gärtner-Bazillen häufige Heilung zur Folge hätte. Versuche mit künstlichen Infektionen der Tiere oder des Impfmaterials und therapeutische Versuche mit Zubereitungen aus Gärtner-Bazillensubstanz und Kulturfiltraten hatten jedoch kein eindeutiges Ergebnis.

Es wurde auch dem Einfluß der Jahreszeit auf den Impferfolg Beachtung geschenkt. Zur Illustration seien die Ergebnisse mit der Verimpfung steriler JENSEN- und FLEXNER-Tumoren, nach Jahreszeiten geordnet, wiedergegeben:

Tabelle 9.

Tumor	Monat	Zahl der Tiere	Impfausbeute positiv %	Impfausbeute negativ %
JENSEN. . .	Januar	245	75,9	24,1
	Februar	243	83,5	16,5
	März	267	82,0	18,0
	April	199	80,4	19,6
	Mai	252	78,6	21,4
	Juni	178	86,5	13,5
	Juli	216	81,5	18,5
	August	281	79,4	20,6
	September	267	86,9	13,1
	Oktober	268	83,5	16,5
	November	207	83,6	16,4
	Dezember	193	86,1	13,9
FLEXNER . .	Januar	242	64,1	35,9
	Februar	271	62,4	37,6
	März	376	52,9	47,1
	April	313	49,8	50,2
	Mai	361	61,2	38,8
	Juni	337	60,5	39,5
	Juli	290	71,7	28,3
	August	335	61,7	38,3
	September	361	60,4	39,6
	Oktober	424	59,2	40,8
	November	358	57,8	42,2
	Dezember	270	62,6	37,4

Ein eindeutiger Einfluß der Jahreszeit ist aus diesen Zahlen nicht zu erkennen. Dies wird noch deutlicher, wenn man den Beobachtungszeitraum auf Quartale beschränkt. Wenn weiter die infizierten Tumoren mit in die Statistik einbezogen werden, so sieht das Ergebnis, nach Quartalen geordnet, folgendermaßen aus:

Tabelle 10.

Tumor	Jahreszeit	Zahl der Tiere	Impfausbeute positiv %	Impfausbeute negativ %
JENSEN. . .	Frühjahr	1044	83,4	16,6
	Sommer	1239	81,9	19,1
	Herbst	967	82,5	17,5
	Winter	950	82,1	17,9
FLEXNER . .	Frühjahr	1156	52,7	47,4
	Sommer	1103	63,1	36,9
	Herbst	1220	57,6	42,4
	Winter	916	61,6	38,4

Ein eindeutiger Einfluß der Jahreszeit auf die Impfausbeute ist demnach nicht zu erkennen.

Die Beobachtung, daß bei den verschiedenen Impftumoren ein mehr oder weniger großer Prozentsatz der Tiere sich gegenüber der Impfung refraktär verhielt, gab die Veranlassung, zu untersuchen, ob der Mißerfolg der Impfung nur durch gewisse Zufälligkeiten oder durch eine Eigenart des verwendeten Tieres begründet ist. Zu diesem Zweck wurde die subkutane Impfung nach einem angemessenen Zeitraum bei den Tieren wiederholt, bei denen eine erste Impfung erfolglos geblieben war.

Sofern auch diese zweite subkutane Impfung nicht anging, wurden die Tiere noch einer weiteren intraperitonealen Impfung desselben Tumors unterworfen. Derartige Versuche wurden mit JENSEN- und FLEXNER-Tumoren durchgeführt.

Beim JENSEN-Tumor wurden alle drei Impfungen in Stückchenform vorgenommen, beim FLEXNER-Tumor wurde die zweite subkutane Verimpfung als Tumorbrei verabfolgt, während die erste subkutane Verimpfung und die intraperitoneale Verimpfung in Stückchenform vorgenommen wurde. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle 11.

Tumor	Impfung	Zahl der Tiere	Impfausbeute	
			positiv %	negativ %
JENSEN . . .	1. subkutan	5194	84,4	15,6
	2. subkutan	573	13,3	87,7
	3. intraperintoneal	401	6,7	93,3
FLEXNER . .	1. subkutan	1080	53,3	46,7
	2. subkutan	300	5,7	94,3
	3. intraperitoneal	216	11,1	88,9

Die Mehrzahl der nach einer ersten erfolglosen Impfung neuerlich einer Impfung unterworfenen Tiere verhält sich demnach auch gegenüber der wiederholten Impfung refraktär. Nach zweimaliger erfolgloser subkutaner Impfung sind die Tiere auch gegenüber der an sich wirksameren intraperitonealen Verimpfung weitgehend immun. Es ist nicht klar, ob diese Immunität durch die erste erfolglose Impfung ausgelöst wird oder ob sie von Natur aus vorhanden war. Für die erste Annahme spricht jedoch ein Versuch, bei dem die erste Verimpfung von JENSEN-Sarkom intrakutan vorgenommen wurde.

Von 5194 Tieren werden demnach nach subkutaner Erstimpfung nach der 3. Impfung 376 als immun zu betrachtende Tiere erhalten, das sind 7,2% der der 1. Impfung unterworfenen Tiere. Von 800 erstmalig intrakutan geimpften Tieren waren 173 = 21,6% der Versuchstiere auch noch gegenüber einer 3. intraperitonealen Impfung immun.

Tabelle 12.

Impfung	Zahl der Tiere	Impfausbeute positiv %	Impfausbeute negativ %
1. subkutan	5194	84,4	15,6
2. subkutan	573	13,3	87,7
3. intraperitoneal	401	6,7	93,3
1. intrakutan	800	50,0	50,0
2. subkutan	347	31,9	68,1
3. intraperitoneal	187	8,0	92,0

Man hat danach den Eindruck, daß die Immunität mindestens teilweise durch die erste intrakutane Verimpfung begünstigt worden ist. Da dieser Versuch jedoch keinesfalls ausschließt, daß auch ein individueller Faktor am Zustandekommen der Transplantationsimmunität beteiligt ist, habe ich weiter Versuche angestellt, um zu beurteilen, ob diese Immunitäten erblich sind. Es wurden daher Tiere, die sich gegenüber einer einmal wiederholten subkutanen und einer anschließenden intraperitonealen Verimpfung als immun erwiesen hatten, miteinander gepaart und die erhaltenen Jungen demselben Impfturnus unterworfen. Von den in der 2. Generation refraktär gebliebenen Tieren wurden neuerlich Nachkommen gezüchtet. In der 3. Generation wurde derselbe Versuch angeschlossen. Die Versuche konnten für das JENSEN-Sarkom bis zur 3. Generation durchgeführt werden; für das FLEXNER-Karzinom konnten nur Ergebnisse an einem Teil der 2. Generation gewonnen werden. Durch die Kriegsereignisse gingen die entsprechenden Zuchten verloren, so daß eine Weiterführung dieser sehr zeitraubenden Versuche unmöglich wurde. Die Resultate sind der nachstehenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 13.

Tumor	Generation	Impfung	Zahl der Tiere	Impfausbeute positiv %	Impfausbeute negativ %
JENSEN	erste	1. subkutan	5194	84,4	15,6
		2. subkutan	573	13.3	87,7
		3. intraperitoneal	401	6,7	93,3
	zweite	1. subkutan	168	82,2	17,8
		2. subkutan	35	8,6	91,4
		3. intraperitoneal	33	0,0	100,0
	dritte	1. subkutan	154	83,1	16,9
		2. subkutan	24	12,5	87,5
		3. intraperitoneal	18	5,6	94,4
FLEXNER	erste	1. subkutan	1080	53,3	46,7
		2. subkutan	300	5,7	94,3
		3. intraperitoneal	216	11,1	88,9
	zweite	1. subkutan	129	65,1	34,9
		2. subkutan	24	16,7	83,3
		3. intraperitoneal	12	8,3	91,7

Bemerkt sei noch, daß die erste subkutane Impfung in der 2. Generation des Flexner-Tumors als Brei und nicht als Stückchen wie in allen übrigen Versuchen vorgenommen wurde.

Es wurde untersucht, ob durch operative Entfernung des Primärtumors immune Ratten erhalten werden. Dazu habe ich eine Reihe subkutan mit Jensen beimpfter Tiere 4—11 Tage später operativ von dem Implantat befreit. Der Tumor wurde dabei ohne Verletzung der Bindegewebskapsel ausgeschaltet. Eine Entfernung größerer Hautpartien oder der Bauchwand fand jedoch nicht statt. 4—8 Wochen nach dieser Operation, während welcher Zeit auf das Auftreten von Rezidiven geachtet wurde, wurden die tumorfrei gebliebenen Tiere auf der gesunden Seite neuerlich subkutan mit Jensen beimpft. Der Teil der Tiere, der auch bei dieser Impfung sich refraktär verhielt, wurde schließlich noch einer intraperitonealen Beimpfung mit Jensen unterzogen.

Tabelle 14.

	Zahl der Tiere	Impfausbeute positiv %	Impfausbeute negativ %
Operierte Tiere	247		
Rezidive	58		
1. Reinfektion subkutan	143	62,2	37,8
2. „ intraperitoneal	52	21,2	78,8

Von 247 in diesem Versuch in Arbeit genommenen Tiere resultieren zum Schluß 41 Immuntiere = 16,6%.

Vergleicht man dieses Ergebnis mit dem der Tabelle 11, so wurden dort von 5194 in Arbeit genommenen Tieren nach der 3. intraperitonealen Impfung 374 Immuntiere = 7,2% erhalten. Die Ausbeute an Immuntieren ist demnach bei den operierten Tieren etwas größer, doch ist der Unterschied gegenüber den Versuchen ohne Operation nicht derartig beträchtlich, daß ich es wagen würde, weitgehende Schlüsse daraus zu ziehen. Ich habe weiter geprüft, ob gegen einen Impftumor immune Tiere auch gegenüber Benzpyrentumoren immun sind. Dazu wurden 31 durch zweimalige subkutane und einmalige intraperitoneale Stückchenimpfung von Flexner als immun erkannte Tiere einmalig mit 5 mg Benzpyren in 0,1 ccm Sesamöl subkutan behandelt. Davon starben vorzeitig innerhalb von 4 Monaten 7, von den restlichen 24 entwickelten 20 = 83,5%, im Laufe weiterer 5 Monate typische Benzpyrentumoren. Die gegen Flexner immunen Ratten sind demnach gegen Benzpyrentumoren nicht immun.

Orientierende Versuche, die Transplantationsimmunität durch Übertragung größerer Mengen von Serum oder Blut passiv auf andere Tiere

zu übertragen, wurden in geringer Zahl vorgenommen. Das Ergebnis war eindeutig negativ.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Als wichtigste Schlußfolgerungen aus den vorstehend geschilderten Untersuchungen möchte ich nur zwei Punkte besonders hervorheben:

Der Impferfolg ist bei den gebräuchlichen Transplantationstumoren der kleinen Laboratoriumstiere in unwesentlichem Maße abhängig von der Art der Implantationstechnik und dem Implantationsort. Viel wesentlicher ist jedoch die Abhängigkeit von der Quantität des Implantats. Aber auch wenn übermaximale Implantatmengen appliziert werden, ist der Impferfolg keineswegs 100%ig. In großen Tierserien ist er besonders hoch bei Ehrlichschem Aszitestumor der Maus und in absteigender Reihenfolge geordnet, beim Jensen-, Walker- und Flexner-Tumor. Dieser Tatsache wird im allgemeinen bei therapeutischen Versuchen mit Tumortieren viel zu wenig Rechnung getragen. Wieviel Tiere innerhalb einer kleinen Tiergruppe nach einer Impfung tatsächlich Tumoren bekommen bzw. heilen, hängt ausschließlich vom Zufall ab. Erst Gruppen von etwa 20 Tieren gestatten ein leidlich begründetes Urteil über die Häufigkeit des Angehens eines Tumors und erst Gruppen von etwa 100 Tieren liefern annähernd gleichmäßige Prozentsätze des Angehens der Tumoren.

Meine Bemühungen, die Gründe des Versagens der Impfung aufzuklären, haben keinen vollen Erfolg gezeitigt. Äußere Gründe, wie Mängel des Implantats und der Technik, sowie Infektion des Impfmaterials scheinen eine relativ geringe Rolle zu spielen. Abgesehen von diesen äußeren Gründen für das Versagen der Impfung, handelt es sich bei der Resistenz der Tiere gegenüber Impftumoren um eine echte Immunität.

Diese Immunität ist tumorspezifisch und nicht humoral, da nicht passiv übertragbar. Sie ist höchstens teilweise durch eine erste erfolglose Beimpfung bedingt und scheint in der Hauptsache eine Eigenschaft des betreffenden Tieres zu sein. Diese Eigenschaft ist allerdings nicht vererbbar.

Zusammenfassung.

1. Es wird an einem größeren Tiermaterial die Häufigkeit des Angehens verschiedener Impftumoren, Jensen-, Walker-, Flexner-, Ehrlich-Tumor und Brown-Pearce-Karzinom des Kaninchens untersucht.

2. Der Impferfolg ist abhängig von der Art des Tumors, von der Impftechnik und von der Menge des implantierten Tumormaterials. Der Impferfolg ist unabhängig von der Jahreszeit.

3. Die durchschnittliche Lebensdauer der erfolgreich geimpften Tiere ist bei den verschiedenen Tumoren verschieden.

4. Selbst übermaximale Beimpfung führt nicht zu 100%igem Impferfolg. Es resultiert vielmehr stets ein für die betreffende Tumorart charakteristischer Prozentsatz „immuner" Tiere.

5. Diese Immunität ist begründet a) in geringem Maße durch die Zufälligkeiten der Impfung, b) durch einen immunisierenden Einfluß der ersten erfolglosen Impfung, c) durch eine individuelle, nicht vererbbare Eigenschaft des betreffenden Tieres.

6. Bei diesen Immunitäten handelt es sich anscheinend um eine geweblich bedingte Transplantationsimmunität, die nicht humoral übertragbar und spezifisch für den jeweiligen Tumor ist.

7. Die Tatsache, daß auch die maligensten Impftumoren keine 100%ige Impfausbeute liefern, wird im allgemeinen bei Therapieversuchen viel zu wenig beachtet.

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen (Direktor: Prof. Dr. St. Went).

Über die Azoverbindungen des Histamins *.

Von

L. Kesztyüs.

(Eingegangen am 5. August 1947.)

Aus den Untersuchungen von Burian [1] sowie von Fischer [2] ist es bekannt geworden, daß man durch Kombination von Imidazolen mit Diazoniumsalzen nach den üblichen Kuppelungsmethoden Farbstoffe erhalten kann, die wahrscheinlich als Azoverbindungen anzusehen sind. Fargher und Pyman [3] haben durch reduktive Spaltung festgestellt, daß bei der Kupplung des Diazoniumchlorids und Glyoxalins eine Doppelreaktion verläuft und neben einem Monoazofarbstoff, dem 2-Benzolazoglyoxalin, eine Triazoverbindung, nämlich 2-4-5-Tribenzolazoglyoxalin, entsteht. Auf Grund von Untersuchungen mit substituierten Imidazolen haben Fargher und Pyman [3], Windaus [4] und Gerngross [5] festgestellt, daß sich nur solche Glyoxaline kuppeln, welche in 1-Stellung nicht substituiert sind, also eine freie Imidogruppe enthalten und mindestens ein disponibles Wasserstoffatom oder eine leicht verdrängbare Gruppe in 2-, 4- oder 5-Stellung besitzen, wie dies z. B. bei der 2-Methylglyoxalin-4-5-carbonsäure der Fall ist. Es erklärt sich weiter, daß die Arylazoverbindungen des Imidazols Mono-, Bis- und Triazoverbindungen sind, die sich voneinander durch ihre Basizität unterscheiden. Diemair und Fox [6] haben durch eingehende Untersuchung der Kupplung des Histidins festgestellt, daß der aktuelle Säuregrad der Reaktionslösung die Geschwindigkeit und die Richtung des Prozesses wesentlich beeinflußt. Geht die Reaktion in stark alkalischer Lösung vor sich, dann verläuft die Kupplung schnell, doch entstehen viele Nebenprodukte; dabei ist es gleichgültig, ob man mit Natronlauge oder Sodalösung alkalisiert; der Unterschied besteht nur darin, daß der Farbstoff in sodaalkalischer Lösung unlöslich ist und daher schnell ausfällt, während er in ätzalkalischer Lösung sehr gut löslich ist, also kein Niederschlag entsteht. In schwach alkalischer Lösung verläuft die Kuppelung langsamer, aber einheitlicher, wie es aus den chromatographischen Untersuchungen hervorgeht: bei Anwendung dieser letzteren Versuchsbedingungen entstehen nur zwei Farbstoffkomponenten. Trotz dieser weitgehenden Vereinfachung der Kuppelungsreaktion lassen sich diese zwei Farbstoffkomponenten mit organischen Lösungsmitteln nicht so weit reinigen,

* Herrn Professor W. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

daß sie chemisch einwandfrei identifiziert werden könnten; bei der Isolierung der Farbstoffe erhielten die oben erwähnten Verfasser nur amorphe, meistens harzige Produkte.

Da die am Histaminmolekül vorgenommenen chemischen Eingriffe in pharmakologischer Hinsicht nicht ganz uninteressant sind, da ferner der mit Hilfe der Paulyschen Diazoreaktion [7] durchgeführte Nachweis und die Bestimmung von Histamin und Histidin fester begründet erscheint, haben wir uns der Isolierung der durch Kuppelung dargestellten Verbindungen zugewendet.

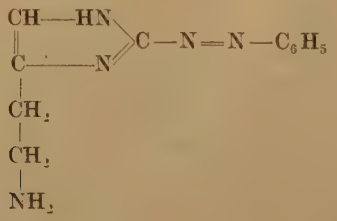
Nachdem alle am 2-C-Atom diazotierten Monoazoglyoxalin-Farbstoffe in verdünnter HCl gut löslich, die Triazo- bzw. Bisazoverbindungen praktisch unlöslich sind, schien mir für die Trennung und Isolierung der Monoazoverbindung verdünnte HCl gut anwendbar zu sein. Mit dieser Methode gelang es tatsächlich, das 2-Benzolazohistamin und das 2-p-Nitrobenzolazohistamin darzustellen.

Zur Gewinnung des 2-Benzolazohistamin wurden 18,6 g Anilin in 50 ccm Salzsäure (vom spez. Gew. 1,18) und 150 ccm Wasser unter Eiskühlung mit 14,4 g $NaNO_2$ in 80 ccm Wasser diazotiert. Zu einer mit 40 g Na_2CO_3 alkalisierten Lösung von 36 g Histamindihydrochlorid in 1000 ccm Wasser, wurde die entstandene Diazoniumsalzlösung tropfenweise unter langsamer Rührung und starker Kühlung gegossen. Nach 24stündigem Stehen wurde der entstandene Niederschlag abgesaugt und mit eiskaltem Wasser gut gewaschen, darauf nach und nach mit 120, 100 und nochmals mit 100 ccm 2,5 %iger kalter Salzsäure extrahiert. Aus dem salzsauren Extrakt scheidet sich der Farbstoff beim Verdünnen und Alkalisieren mit Soda ab und läßt sich nach dreimaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser in roten Prismen ganz rein darstellen; Schmelzpunkt 237° C, Ausbeute: 12 g, das sind 25% der Theorie. In Alkohol, Äther, Azeton, Chloroform, Benzol ist die Substanz gut, in eiskaltem Wasser kaum löslich. Nach Darstellung und Verbrennungsergebnissen handelte es sich um Benzolazohistamin:

0,1179 g Substanz gaben 33,7 ccm N (19,3°; 743,4 mm Hg),
0,4075 g „ „ 0,9159 g CO_2 und 0,2233 g H_2O.

$C_{11}H_{13}N_5$

Ber.: C 61,36% H 6,09% N 32,55%
Gef.: C 61,30% H 6,13% N 32,62%

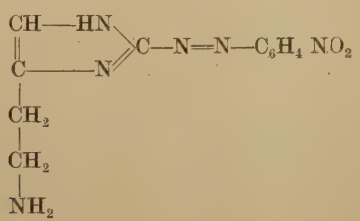


Zur Gewinnung des p-Nitrobenzolazohistamins wurden 13,8 g p-Nitranilin in 25 ccm HCl und 75 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst, die Lösung in 400 ccm Eiswasser gegossen und 7,2 g $NaNO_2$ in 40 ccm Wasser zugegeben. Die schwach gelb gefärbte Diazoniumsalzlösung wurde filtriert und tropfenweise zu einer mit 20 g Na_2CO_3 alkalisierten Lösung von 18 g Histamindihydrochlorid unter Rühren und Kühlen gegossen. Nach 24 Stunden lang dauerndem Stehen wurde der sich ausscheidende Niederschlag abgesogen und gewaschen, danach mit 60, dann 2mal 50 ccm 2,5%iger kalter Salzsäure extrahiert. Der Extrakt wurde auf 1000 ccm verdünnt und mit Na_2CO_3 alkalisch gemacht, worauf sich der rotbraune Farbstoff in Tafelkristallen abschied. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol war sein Schmelzpunkt 251° C. Ausbeute: 8 g, d. h. 33% der Theorie. Von organischen Lösungsmitteln war die Substanz in kaltem Äther, Chloroform oder Benzol kaum, jedoch in Alkohol und Azeton gut löslich. Nach Darstellung und Verbrennungsergebnissen handelte es sich um p-Nitrobenzolazohistamin:

0,1259 g Substanz gaben 35,8 ccm N (20,1°; 744,9 mm Hg,
0,3791 g „ „ 0,7049 g CO_2 und 0,1593 g H_2O.

$C_{11}H_{11}N_6O_2$

Ber.:	C 50,74%	H 4,65%	N 32,31%
Gef.:	C 50,71%	H 4,70%	N 32,35%



Daß die Kuppelung tatsächlich an dem 2-C-Atom verläuft, kann man nur aus der Tatsache folgern, daß bisher alle Monoazoverbindungen des Glyoxalins nach Untersuchungen von Fargher und Pyman 2-Arylazoimidazole waren. Die Reduktion mit HCl und $SnCl_2$ ist bisher noch nicht gelungen; es war nicht möglich, neben der entsprechenden Menge Anilin oder p-Nitranilin das 2-Aminohistamin zu isolieren. Diese Erfahrung entspricht den Versuchen von Diemair und Fox, die das 2-Aminohistidin auf anderen Wegen darzustellen versuchten; diese labile Verbindung wurde aber schnell zerstört.

Mit den dargestellten Verbindungen (2-Benzolazohistamin, 2-p-Nitrobenzolazohistamin) durchgeführte orientierende Versuche haben gezeigt, daß beide Farbstoffe an isolierten Froschherzen in einer Dose von 0,1 mg, am Katzenblutdruck in einer Dose von 1 mg ohne Wirkung sind. Gebauer-Fulnegg[8] hat in seinen in chemischer Hinsicht radikalen

Versuchen ähnliche Resultate bekommen. Er hat zu einer Histaminlösung in Anwesenheit von Na_2CO_3 2 Mol diazotierter Sulfanylsäure gegeben, die entstandene Farbstofflösung auf physiologisches p_H gebracht und am isolierten Darm geprüft; die Lösung hatte keine Wirkung. Wird die Kuppelung in der 2-Stellung einwandfrei festgestellt, so kann man aus der Unwirksamkeit der hergestellten Verbindungen auf die pharmakologische Wichtigkeit des 2-C-Atoms des Imidazolkernes folgern, eine Tatsache, die auch durch van der Meerve [9] bei der Synthese von 2-Methyl-, 2-Äthyl-, 2-Phenyl- und 2-Benzylhistamin beobachtet wurde.

Zusammenfassung.

Von den durch Kuppelung von Histamin und diazotiertem Anilin- und p-Nitranilin entstandenen Azofarbstoffen wurde das Benzolazohistamin und das p-Nitrobenzolazohistamin durch Extraktion mit 2,5% HCl isoliert. Schmelzpunkt des Benzolazohistamins 237° C, Ausbeute 25%; Schmelzpunkt des p-Nitrobenzolazohistamins 251° C, Ausbeute 33%. Die reduktive Spaltung der dargestellten Verbindungen ist noch nicht gelungen. Sowohl das Benzolazohistamin wie auch das p-Nitrobenzolazohistamin waren am isolierten Froschherzen und am Katzenblutdruck auch in relativ großen Dosen unwirksam.

Literatur.

[1] Burian, R.: Ber. dtsch. chem. Ges. **37**, 686 (1904). — Z. physiol.Chem. **51**, 426 (1907). — [2] Fischer, H.: Z. physiol. Chem. **60**, 73 (1909). — [3] Fargher, R. G. and Fr. L. Pyman: J. chem. Soc., Lond. **115**, 217, 236 (1919). — [4] Windaus, A.: Ber. dtsch. chem. Ges. **54**, 2746 (1921). — [5] Gerngross, O.: Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 525 (1912). — [6] Diemair, W. u. H. Fox: Biochem. Z. **298**, 38 (1938). — [7] Pauly, H.: Z. physiol. Chem. **44**, 159 (1904); **94**, 284 (1915). — [8] Gebauer-Feulnegg, E.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **29**, 1085 (1932). — [9] van der Meerve, P.: Z. physiol. Chem. **177**, 301 (1928).

Aus dem Hauptlabor der Schering A.G., Berlin.

Über Sulfonamide*.

Von

Hedwig Langecker.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Die Einführung der Sulfonamide in die Chemotherapie durch Domagk[1] hat zur Synthese einer großen Zahl von therapeutisch verschieden bewerteten Verbindungen geführt, deren Wirkungsmechanismus zum erwiesenen Antagonismus gegenüber p-Aminobenzoesäure in Beziehung gebracht wird. Den stofflichen Veränderungen, die Sulfonamide im Organismus erfahren, ist bisher geringere Beachtung geschenkt worden (Scudi[2]), obwohl diese Gruppe stabiler, wenig giftiger und leicht nachweisbarer Verbindungen für Untersuchungen intermediärer Reaktionen sehr geeignet ist. Im Organismus wird abgesehen von der Ausscheidung, die den größten Teil der Verbindungen entfernt, Entgiftung durch Azylierung der aktiven Anilidogruppe und Sprengung der Sulfonamidbindung herbeigeführt. Die meisten Bilanzen berücksichtigen nur die freie und azylierte Aminogruppe der Sulfanilsäure. Es sind vergleichende Untersuchungen des chemischen und biologischen Verhaltens einzelner Sulfonamide zur Feststellung von Beziehungen zwischen Konstitution und Eindringungs-, Haft- und Reaktionsvermögen in der chemotherapeutischen Gruppe der Sulfonamide geplant. Die unerläßliche Voraussetzung einheitlicher Methodik rechtfertigt unvermeidliche Wiederholungen.

Untersucht wurden: Sulfanilamid, N_1-azetylsulfanilamid = N-Sulfanilazetamid = Albuzid, 2-Sulfanilamidopyridin = Eubasin, 2-Sulfanilamidothiazol = Eleudron, 2-Sulfanilamido-5-äthylthiodiazol = Globuzid, 2-Sulfanilamidopyrimidin = Sulfadiazin = Pyrimal, 2-Sulfanilamido-4-methylpyrimidin = Sulfamerazin (Schmelzpunkt 233°) und zum Teil die in N^4-Stellung azetylierten Verbindungen.

Die kolorimetrische Bestimmung der Sulfonamide wurde nach der Methode von Bratton und Marshall[3] mit N-(1-Naphthyl)äthylendiamindihydrochlorid als Kuppler der diazotierten Verbindung mit dem

* Herrn Prof. Dr. Wolfgang Heubner zum 70. Geburtstage gewidmet.

[1] Domagk, G. D.: Med. Welt **1935**, 250. — [2] Scudi, J. V. u. R. H. Silber: J. Biol. Chem. (Am.) **156**, 344 (1944). — [3] Bratton, A. G. u. E. K. Marshall: J. Biol. Chem. (Am.) **128**, 537 (1939).

lichtelektrischen Kolorimeter nach HAVEMANN[4] ausgeführt unter Verwendung einer eigenen Eichkurve für jedes Sulfonamid.

Durch Verwendung von Wasser und Reagentien, die frei von Oxydantien waren, konnte ein farbloser Leerwert erreicht werden, der auch in niedrigen Konzentrationen verläßliche Bestimmungen ermöglicht. Die Azetylverbindungen wurden nach dem Vorschlag von SCUDI[5] mit 2,6 n Lauge gespalten, um Fehler durch die gleichzeitige Bildung von Sulfanilsäure bei saurer Hydrolyse auszuschalten. Auf diese Weise konnten auch bei dem Azetylderivat der Pyrimidinverbindung 100% gefunden werden.

Zur Bestimmung der Azetylverbindungen im Serum wurde in einer 50—100fachen Verdünnung mit Toluolsulfosäure enteiweißt und nachher alkalisch, verlustlos ohne störende Verfärbungen hydrolysiert, im Gegensatz zur Enteiweißung mit Trichloressigsäure.

Zur Beurteilung von Aufnahme und Entgiftung eines Stoffes ist die Kenntnis der Löslichkeit in Wasser und biologischen Flüssigkeiten wichtig. Bei der Feststellung der Wasserlöslichkeit ist die Bestimmung in Wasser der in gepufferten Lösungen vorzuziehen, weil die Pufferkapazität eine Rolle spielt. Die Wasserlöslichkeit wurde durch Kochen der Substanzen bei vorhandenem Bodenkörper und nachträglichem 24stündigen Stehen bei Raumtemperatur unter Vorschalten eines Natronkalkrohres ermittelt. Zur Bestimmung der Löslichkeit in physiologischer Kochsalz- bzw. 1/15 molaren Phosphatpufferlösungen wurde das Sulfonamid mit den Salzlösungen versetzt, in Ampullen eingeschmolzen, 1 Stunde lang gekocht und nachher bei 37° aufbewahrt. Der gelöste Anteil wurde kolorimetrisch und durch mikroanalytische Trockenbestimmung ermittelt und nur gut übereinstimmende Werte verwendet.

In Tabelle 1 sind die Löslichkeiten in Wasser, physiologischem Kochsalz und Phosphatpuffern unter gleichzeitiger Berücksichtigung von Literaturangaben zusammengestellt. Unsere Befunde stimmen weitgehend mit denen anderer überein. Gewisse Unstimmigkeiten sind auf methodische Fehler zurückzuführen, die bei der großen Abhängigkeit der Löslichkeit vom Reinheitsgrad und p_H leicht verständlich sind. Die Löslichkeit eines Sulfonamids kann als brauchbares Kriterium für dessen Reinheit dienen.

Die Wasserlöslichkeit der Sulfonamide ist bei Sulfanilamid und seinem N_1-azetylderivat wesentlich höher als bei Verbindungen mit heterozyklischen Ringsystemen. Die in der Literatur beschriebenen 2-Methyl- und 4-6-Dimethylverbindungen zeigen die größten Löslichkeiten. Die Methylierung bewirkt in der Reihe der Pyrimidinderivate

[4] HAVEMANN, R.: Klin. Wschr. **1940**, 503. — [5] SCUDI, J. V.: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **25**, 404 (1940).

eine Zunahme der Löslichkeit. — Die Löslichkeit nimmt bei 37° gegenüber Zimmertemperatur für Sulfanilamid, Sulfanilamidopyridin, -thiazol und -äthylthiodiazol beträchtlich zu, während die übrigen Verbindungen bei Zimmertemperatur und 37° etwa gleich löslich sind. — Die Löslichkeit der in der Anilidogruppe azetylierten Verbindungen beträgt bei Azetylsulfanilamid den 5. Teil, bei der Azetylverbindung des Sulfanilazetamids den 20. Teil, bei Azetylsulfanilamidothiazol den 14. Teil, bei Sulfanilamidopyridin und -äthylthiodiazol 40% der der freien Verbindung; Azetylsulfanilamidopyrimidin zeigt gegenüber der nicht azetylierten Verbindung sogar eine Löslichkeitszunahme. (Ein in den Nierenkanälchen nach Sulfa-4-methylpyrimidinanwendung beim Menschen abgeschiedenes Produkt, das von uns untersucht wurde, bestand zu 82% aus azylierten Sulfonamid und zeigte eine Wasserlöslichkeit von 92 mg-% bei 37°.) — Der Unterschied der Löslichkeit in Wasser und Kochsalz ist nicht wesentlich.

Die Sulfonamide bilden gut wasserlösliche Natriumsalze. Die Löslichkeit der Sulfonamide nimmt mit steigendem p_H zu. Bei den gut wasserlöslichen Verbindungen ist in dem geprüften p_H-Bereich diese Zunahme, wenn überhaupt vorhanden, gering, wie bei Sulfanilamid und seinem Azetylderivat. In der Gruppe der schwer löslichen Verbindungen beträgt die Zunahme der Löslichkeit bei Sulfanilamidoäthylthiodiazol das 20fache, bei Sulfanilamidopyrimidin das 10fache, bei Sulfanilamidothiazol und -methylpyrimidin das 5fache, bei Sulfanilamidopyridin ist sie unbedeutend. In der Gruppe der azetylierten Verbindungen beträgt die Löslichkeitszunahme bei Sulfanilamidoäthylthiodiazol das 70fache, bei der Azetylverbindung des Sulfanilazetamids das 20fache, bei Azetylsulfanilamidopyrimidin das 15fache, bei -thiazol das 4fache, während sie bei Azetylsulfanilamidopyridin nur gering ist.

Für die Beurteilung des Nebeneinandervorkommens freier und azylierter Verbindungen im Organismus, insbesondere im Hinblick auf die häufig beobachteten mechanischen Nierenschäden, ferner für eine experimentelle Begründung kombinierter Anwendung von Sulfonamiden ist das Verhalten der Löslichkeiten in Gemischen wichtig. Vom chemischen Standpunkt aus wäre zu erwarten, daß die Sulfonamide sich voneinander unabhängig lösen. Frisk[6] fanden bei der Prüfung der Löslichkeit in Gemischen von Sulfanilamidothiazol, -pyridin und -methylpyrimidin mit ihren Azetylderivaten im Harn im ph-Bereich von 5,9—7,9, daß sich die Verbindungen unabhängig voneinander lösen. Eigene Versuche über die Löslichkeit von Gemischen freier und azetylierter Verbindungen in Wasser bei 37° (durch Aufkochen bei Bodenkörper hergestellt) zeigten bei Sulfaäthyldiazol, -pyridin und -pyrimidin eine

[6] Frisk, A. R., G. Hagermann, St. Helander u. B. Sjögen: Brit. Med. J. 7 (1947).

Tabelle 1. *Die Löslichkeit von Sulfonamiden in Wasser, physiologischer*

Substanz	Wasser			physiologische Kochsalzlösung		Phosphat-				
	p_H					4,9		5,5	5,7	
	Temperatur	37°		37°		20°	37°	37°	20°	37°
	20°	p_H		p_H						
Sulfanilamid	715[7]				1098[8]	694[9]	1064[8]			
p-Acetylamido-phenylsulfamid						144[9]				
Sulfanilyl-Acetylamid	1260[7]	4	1400[8]		983[8]	830[9]	978[8]			
N-[p-Acetylamidophenylsulfonyl] acetamid						43[9]				
Sulfanilamidothiazol	45[7]		94[11]		104[8]	53[9]	108[8]	95[12]		
			94[14]					95[12]		
		5,5	95[8]							
Acetylsulfanilamidothiazol			7[11]			8[9]		6[12]		
			7[14]					6[12]		
Sulfanilamidopyridin	20[7]	5,2	50[14]			70[9]	44[8]	61[9]		
			53[8]							
Acetylsulfanilamidopyridin			21[14]			30[9]		33[12]		
		7,2	31[8]							
		6,6	24[8]							
2-Sulfanilamidopyrimidin	15[7]		12[11]		16[8]	9[9]	16[8]	18[12]	8[10]	13[10]
			12[14]					18[12]	(25°)	
		7,0	12[8]							
		6,0	12[8]							
Acetylsulfanilamidopyrimidin			15[11]			8[9]		26[12]		
			15[14]					26[12]		
		6,3	24[8]							
		5,7	23[8]							
2-Sulfanilamido-4-methylpyrimidin	24[7]		32[11]				34[8]			
	21[8]	6,0	37[8]							
	(25°)									
Acetylsulfanilamido-4-methylpyrimidin			28[11]	5,1						
4-Sulfanilamido-2-methylpyrimidin			623[16]							
2-Sulfanilamido-4-6-dimethylpyrimidin	148[7]		75[16]					191[12]		
								191[12]		
Acetylsulfanilamido-4-6-dimethylpyrimidin								115[12]		
								115[12]		
Sulfanilamidoäthylthiodiazol	22[7]	5,2	60[8]	4,5	62[8]	42[9]				146[8]
Acetylsulfanilamidoäthylthiodiazol		6,0	16[8]			13[9]				
		5,2	12[8]							

[7] FRISK, A. R.: Sulfanilamide Derivatives. Stockholm 1943. — [8] Eigene Werte. — [9] VONKENNEL, J.: Dtsch. med. Wschr. **1942**, 954. — [10] FITCH, W. K.: Brit. J. vener. Dis. **20**, 498 (1944). — [11] ROBLIN, R. O., J. H. WILLIAMS, PH. S. WINNEK u. J. P. ENGLISH: J. amer. chem. Soc. **62**, 2002 (1940). — [12] MACARTNEY, D. W., G. STEWERT SMITH, R. W. LUXTON, W. A. RAMSAY, J. GOLDMAN:

Kochsalzlösung, Phosphatpuffern ausgedrückt in mg-%.

puffer

5,9		6,0		6,5	6,6		6,9	7,0		7,1		7,5	8,0	
20°	37°	20°	37°	37°	25°	37°	37°	20°	37°	25°	37°	37°	20°	37°
704[9]	1050[8]						1023[8]	698[9]		836[10]	1460[10]	1167[8]	694[9]	
144[9]								144[9]					143[9]	
909[9]	974[8]						1607[8]	1632[9]				2241[8]	2232[9]	
87[9]								638[9]					930[9]	
54[9]	96[10]	51[13]		103[12]			204[8]	65[13]				192[12]	125[13]	
50[10] (25°)	94[8]			103[12]				72[9]				192[12] 356[8]	144[9]	
7[9]		8[13]		6[12]				11[13]				25[12]	35[13]	
				6[12]				10[9]				25[12]	36[9]	
70[9]	60[8]	64[13]		61[12]	27[10]	49[10]		67[13]	58[8]			62[12]	70[13]	
								71[9]				62[8]	81[9]	
31[9]		22[13]		34[12]				30[13]				37[12]	39[13]	
								32[9]					47[9]	
10[9]	21[8]	13[13]	18[15]	20[12]			29[8]	45[13]	54[8]			52[12]	191[13]	170[15]
				20[12]				33[9]				52[12] 81[8]	127[9]	
13[9]		23[13]	54[15]	43[12]				72[13]	168[15]			248[12]	208[13]	429[15]
				43[12]				84[9]				248[12]	253[9]	
	35[8]		36[16]				86[8]		66[15]			144[8]		
			45[15]						115[15]					304[15]
				209[12]								297[12]		
				209[12]								297[12]		
				117[12]								176[12]		
				117[12]								176[12]		
146[8]						500[8]		506[9]			610[8]		928[9]	
84[9]														
53[9]								391[9]					879[9]	

Lancet **1942**, 639. — [13] Pulver, R. u. R. Suter: Schweiz. med. Wschr. **1943**, 403. — [14] Feinestone, W. H., R. D. Williams, R. T. Wolff, E. Huntigton M. L. Crossley: Bull Johns Hopkins Hosp. **67**, 427 (1940). — [15] Kikuth: Med. Welt **1943**, 483. — [16] Roblin, R. O., Ph. S. Winnek, J. P. English: J. amer. chem. Soc. **64**, 567 (1942).

Tabelle 2. *Wasserlöslichkeit freier und azetylierter Sulfonamide in Gemischen bei 37° in mg-%.*

Sulfonamidgemische	im Gemisch gefunden		Löslichkeit der Partner	
	frei	azetyliert	frei	azetyliert
Sulfanilamid und Azetylverbindungen . .	1620	375	1630	323
Sulfathiazol und Azethylverbindung . . .	110	14	94	10
Sulfapyridin und Azetylverbindung . . .	131	48	53	27
Sulfapyrimidin und Azetylverbindung . .	61	21	14	21
Sulfäthylthiodiazol und Azetylverbindung.	176	47	60	26
	117	40	60	14

Zunahme der Löslichkeit, und zwar besonders bei den freien Verbindungen (Tabelle 2).

Über die Löslichkeit von Sulfonamiden in biologischen Flüssigkeiten liegen viel weniger Vergleichszahlen vor. Aus Mangel an Menschenserum konnten eigene Versuche nur mit Pferdeserum durch 24stündiges Schütteln bei 37° und vorhandenem Bodenkörper durchgeführt werden. In Tabelle 3 sind die diesbezüglichen Befunde mit den entsprechenden Literaturangaben zusammengestellt.

Beim Vergleich der Löslichkeiten im Serum mit der in Pufferlösungen von p_H 6,9—7,5 ergibt sich bei Azetylsulfanilamidothiazol, -pyridin im Pferdeserum und seinem Azetylderivat sowie beim Sulfapyrimidin und Sulfa-4-methyl-pyrimidin eine Löslichkeitszunahme im Serum, während die übrigen Verbindungen im Serum und in Pufferlösungen gleich gut löslich sind. Es ist demnach im Serum die Pufferung der maßgebende Faktor für die Löslichkeit, wenn auch nicht der ausschließlich bestimmende.

Noch schwieriger ist die Löslichkeit der Sulfonamide im Harn zu beurteilen, der auch unter Berücksichtigung von p_H und spezifischem Gewicht eine schlecht definierbare Größe darstellt. Im Harn müssen bei der weiten Spanne des vorkommenden p_H-Bereiches sehr verschiedene Löslichkeiten erwartet werden. Die Zunahme der Löslichkeit mit steigendem p_H ist bei Azetylsulfanilamidothiazol, insbesondere aber bei Sulfapyrimidin und seinem Azetylprodukt bedeutend. Darüber hinaus bestehen noch unübersehbare Unterschiede in dem Lösungsvermögen verschiedener Harne (HEUBNER[17]). Auffallend ist, daß Azetylsulfanilamidothiazol und auch Sulfanilamidopyrimidin und sein Azetylderivat im Harn von p_H 7 schlechter löslich sind als im Serum, das offenbar die größere Pufferkapazität hat. Anderseits ist Sulfapyrimidin zum Unterschied von Sulfathiazol und Sulfapyridin im Harn besser löslich als in Pufferlösungen. — Die für jedes Sulfonamid charakteristische

[17] HEUBNER, W.: Dtsch. med. Wschr. **1943**, 385.

Löslichkeit ist auch in individueller Weise von p_H und Pufferkapazität abhängig.

Die für die Konzentration im Glomerulusharn maßgebliche Sulfonamidkonzentration im Plasma wird abgesehen von der Durchblutung von der Verteilung auf Zellen und Plasma sowie von dem Verhalten zu den Plasmaeiweißkörpern abhängen. In Dialyseversuchen mit menschlichem Plasma fand Davis[18] Sulfanilamid zu 80%, Sulfapyridin zu 60%, Sulfapyrimidin zu 45% und Sulfathiazol zu 25% an Plasmaeiweißkörpern gebunden. Andersen, Møller und Simesen[19] wiesen in Dialyseversuchen nach, daß $^2/_3$—$^4/_5$ des Sulfathiazols im Plasma in nicht ultrafiltrierbarer Form vorliegen. Nach Frisk[7] ist bei Sulfanilamid die Konzentration in den Erythrozyten größer als im Plasma, bei Sulfathiazol und Sulfapyridin ist die Konzentration im Plasma doppelt so groß als in den Zellen, während von Sulfaäthylthiodiazol nur Spuren in den Erythrozyten gefunden wurden.

Clearance Bestimmungen beim Menschen von Frisk[7] ergaben für freie Sulfonamide größere Werte als für Kreatinin, so daß Rückresorption stattfinden muß. In Tabelle 4 sind die der Arbeit Frisk entnommenen Werte unter Hinzufügung unserer für Sulfanilamido-4-methylpyrimidin ermittelten zusammengestellt.

Sulfaäthylthiodiazol, Sulfapyridin, Sulfapyrimidin und Sulfa-4-methylpyrimidin zeigen sehr niedrige Clearance-Werte, so daß bei diesen Verbindungen eine erhebliche Rückresorption angenommen werden muß, während Sulfathiazol und Sulfanilamid nur wenig rückresorbiert werden. Die Azetylverbindungen hingegen zeigen sogar die Kreatinin-Clearance übersteigende Clearance-Werte, was eine geringe oder fehlende Rückresorption der azetylierten Derivate bedeutet. Damit wäre zu erklären, daß im Harn der prozentuelle Anteil der azylierten Verbindung viel größer ist als im Plasma. Außerdem wäre zu erwägen, ob nicht eine zusätzliche Azylierung erst in der Niere stattfindet. Der Grad der Rückresorption wird auch die Einwirkungszeit einer bestimmten Dosierung beeinflussen. Während die Konzentration an Sulfonamiden im Glomerulusharn bei den therapeutisch in Betracht kommenden Blutspiegeln niemals die Sättigungsgrenze überschreitende Grade erreichen wird, ist in den tieferen Harnwegen mit eintretender Wasserrückresorption und p_H-Verschiebung nach der sauren Seite die Gefahr mechanischer Schäden infolge ausfallender Sulfonamide größer, insbesondere beim Sulfathiazol und den azetylierten Verbindungen, die nur in geringem Grade rückresorbiert werden. Nach Sulfanilamid wurde im Tierversuch mehrfach eine azidotische Verschiebung im Blut und ein Basenverlust

[18] Davis, B. D.: Science **95**, 78 (1942). — [19] Andersen, A. H., K. O. Møller u. M. H. Simesen: Arch. exper. Path. (D.) **199**, 528 (1942).

Tabelle 3. *Die Löslichkeit von Sulfonamiden in Blut,*

Substanz	Menschenserum		Pferdeserum
	p_H		
	25°	37°	
Sulfanilamid	981 [10]	1970 [10]	950 [8]
p-Azetylamido-phenyl-sulfamid			286 [8]
Sulfanilylazetylamid			1340 [8]
Sulfanilamidothiazol	50 [10]	96 [10]	257 [8]
Azetylsulfanilamidothiazol			
Sulfanilamidopyridin	27 [10]	49 [10]	64 [8]
		118 [8]	
Azetylsulfanilamidopyridin		72 [8]	106 [8]
Sulfanilamidopyrimidin	8 [10]	13 [10]	107 [14]
			150 [8]
Azetylsulfanilamidopyrimidin			126 [14]
			266 [8]
2-Sulfanilamido-4-methylpyrimidin			178 [8]
6-Sulfanilamido-2-4-dimethylpyrimidin			
Azetyl-6-Sulfanilamido-2-4-dimethylpyrimidin			
Sulfanilamidoäthylthiodiazol			610 [8]
Azetyl-Sulfanilamidoäthylthiodiazol			336 [8]

im Harn beschrieben[20]. Schwankungen der Wasserrückresorption und Schwankungen im Verhältnis der Rückresorption des Wassers zu der des Sulfonamids sind ein wichtiger Faktor für die im Endharn auftretende Konzentration. Eine weitere Gefahrenquelle sind die ungünstigen Löslichkeiten der Azetylverbindungen des Sulfapyridins, -thiazols und -pyrimidins. Anderseits kann in Gemischen freier und azylierter Verbindungen eine Löslichkeitsbeeinflussung im nachteiligen Sinne eintreten.

Die Verwertung der erhobenen Befunde für eine Charakteristik der einzelnen Sulfonamide muß einem Zeitpunkt vorbehalten bleiben, zu dem die bereits begonnenen Untersuchungen über Aufnahme, Verteilung und Giftigkeit abgeschlossen sind.

In Bilanzversuchen mit Sulfa-4-methylpyrimidin wurde beim Menschen nach einmaliger intravenöser Gabe von 2 g in 3 Versuchen

[20] MARSHALL, CUTTING u. EMERSON: J. amer. Assoc. **110**, 252 (1938). — STRAUSS u. SOUTHWORTH: Bull. Hopkins Hosp., Baltim. **63**, 41 (1938). — MCCHESNEY, SPRAGUE u. MARSHALL: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **26**, 1154 (1941).

Serum und Harn bei 37° ausgedrückt in mg-%.

Serum	Defibriniertes Kaninchenblut	Harn								
		5,5	6,0	6,3 gekocht	6,5	6,6	6,9 gepuffert	7,0	7,5	8,0
201 [13]			98 [13]					156 [14]		221 [13]
104 [13]			12 [13]	26 [14]			23 [14]	20 [14]		42 [13]
				38 [14]			38 [14]			
52 [13]			62 [13]					69 [14]		77 [13]
33 [13]			24 [13]	30 [14]			23 [14]	28 [14]		45 [13]
				34 [14]			31 [14]			
243 [13]	247 [14]		18 [13]			32 [14]		99 [14]		185 [13]
			13 [22]							
250 [13]	198 [14]		47 [13]	116 [14]			85 [14]	153 [14]		257 [13]
			30 [22]	113 [14]			88 [14]			
		362 [21]			600 [21]				1100 [21]	
		190 [21]			224 [21]				485 [21]	
		(24 *)			(24 *)				(39 *)	

im Harn 65—84%, im Kot 0,3—3,6% Gesamtsulfonamid ausgeschieden. Der Anteil des azylierten Sulfonamids im Harn stieg allmählich bis auf Werte von 57—78% in 4 Tagen an. — Ein Hund von 12 kg schied nach per oraler Gabe von 1 g/kg in 4 Tagen im Harn 41% und im Stuhl 7% aus. Azylierung war nicht nachweisbar.

In Bilanzversuchen an Ratten wurde nach 5tägiger Beobachtung auch das getötete Tier in die Bilanz einbezogen.

Kot und Leiche wurden mit Alkohol extrahiert. Die die Sammlung des Kotes erschwerende Koprophagie der Ratte wurde durch Anwendung von Käfigen umgangen, die dem Tier so angepaßt war, daß es ohne sonstige Beeinträchtigung mit der Schnauze nicht zum After gelangen konnte. Die Tiere saßen bei ausgiebigem, wasserreichen Futter 5 Tage hindurch in solcher Einzelhaft. In 4 Versuchen nach peroraler Gabe von 3 g/kg = $^2/_5$ der tötlichen Dosis betrug die Ausscheidung im Harn bzw. Kot 31 bzw. 20%, 20 bzw. 54%, 44 bzw. 9% und 35 bzw. 12%.

[21] Meier, R., O. Allemann u. H. v. Meyenburg: Schweiz. med. Wschr. **1944** 1091. — [22] Heubner, W.: Dtsch. Gsdh.wes. 1, 352 (1946).

* Durch Schütteln hergestellt.

Tabelle 4. *Die Nierenclearance der Sulfonamide.*

Sulfonamid	freies Sulfonamid			azyliertes Sulfonamid		
	Blutspiegel mg-%	ccm Blut cleared/ Min.	Verhältnis Kreatinin/ Sulfonamid-Clearance	Blutspiegel mg-%	ccm Blut cleared/ Min.	Verhältnis Kreatinin/ Sulfonamid-Clearance
Sulfanilamid *. . .	3—5,6	23,8—57,8	1,8—4,6	0,5—1,6	67—132,7	0,8—2,0
Sulfathiazol * . . .	3,2—6,0	42,4—77,4 28,5	1,9—2,5 4,2	1,1—3,5	70,8—108 44,6	1,1—2,7 2,7
Sulfaäthylthiodiazol*	13,2—18,1	8,2—26,3	5,8—10,3	0,6—2,5	7,1—48	2,6—24
Sulfapyridin *. . .	2,9—8,2	12,8—29,7	4,9—10,2	0,5—3,1	32,3—145,5	1,4—4,7
Sulfapyrimidin *. .	5,9—14	12,6—45.8	3,8—8,7	0,4—1,3	58,3—227	0,9—2,6
Sulfa-4-methylpy.imidin	2,7—8,2	5,5—14,2	—	0,6—1,7	10—60	—

In der Leiche wurden nach peroraler Gabe nur wenige Zehntel Prozent wiedergefunden, in einem Versuch 3% in der Leiche, 0,5 im Magendarmkanal. Die Azetylierung stieg bis zum 4. Tag auf 26—55%. In 1 Versuch mit intravenöser Gabe von 1,4 g = $^3/_4$ der tötlichen Dosis wurden im Harn 48% mit einem Azetylierungsgrad von 36% ausgeschieden. In einem 2. Versuch mit 0,6 g/kg, $^1/_3$ der tötlichen Dosis wurden im Harn 64%, im Kot 1,1% mit einem Maximum an Azetylierung von 37% in 8 Stunden ausgeschieden. In der Leiche fand sich 3% Sulfonamid, davon 64% azyliert.

Es fällt in den Rattenversuchen, die sich von den Menschenversuchen durch die Dosis unterscheiden, das große Defizit in der Bilanz auf. Der nicht erfaßte Rest muß einer nicht mehr kuppelbaren Verbindung angehören, wobei es an diesem Anteil des Sulfonamids zu tiefgreifenden Veränderungen im Molekül gekommen ist. Durch Reduktion des Harnes mit Zinnchlorür bzw. mit Zinkstaub wurde keine Zunahme der kuppelbaren Verbindungen erreicht, so daß Zwischenstufen nach Art der Phenylhydroxylamine ausscheiden. Da bei andern Sulfonamiden nach Literaturangaben in den Ausscheidungen viel größere Mengen wiedergefunden wurden, müßte die 4-Methylverbindung besonders leicht oxydierbar sein. Eine vergleichende Prüfung der einzelnen Sulfonamide mit Ferrizyanid (HAGEDORN-JENSEN) ergab keine Stütze einer solchen Annahme. Auch gegenüber den Redoxindikatoren Neutralrot, Methylenblau, Indigotrisulfonat und 2,6-Dichlorphenol-Indophenol verhielten sich die geprüften Sulfonamide durchwegs indifferent. Versuche mit Rattenleber zur Feststellung enzymatischer Oxydation sind im Gang.

Man übersieht heute die Beziehungen intermediärer Stoffwechselprodukte der Sulfonamide zu toxischen Wirkungen auf den Blutfarbstoff. Auf die Bedeutung der Zugehörigkeit eines großen Teiles der Sulfonamide zu den aromatischen Aminoverbindungen für ihr Schicksal im Organismus hat W. HEUBNER[23] hingewiesen, der mit seinen Schülern in vieljähriger Arbeit die chemische Reaktionsfähigkeit aromatischer Stickstoffverbindungen am Blutfarbstoff als chemisch gut

* Die Werte wurden der Arbeit von FRISK[7] entnommen.

[23] HEUBNER, W.: Erg. Physiol. **43** (1940). — Klin. Wschr. **1940**, 265; **1941**, 137; **1942**, 961. — Dtsch. med. Wschr. **1940**, 953.

bekannten Reaktionspartner durchforscht und aufgeklärt hat. Bei der zu Hämiglobin führenden Reaktion des Blutfarbstoffes treten bei aromatischen Stickstoffverbindungen (für Amino- und Nitroverbindungen übereinstimmend) als katalytisch wirksames Oxydo-Reduktionspaar Phenylhydroxylamin und ein Radikal C_5H_6NHO mit 4-wertigem Stickstoff in einem Kreisprozeß auf, bei dem ein Vielfaches von Sauerstoff auf entsprechende Mengen Hämoglobin-Eisen übertragen wird, in dem Phenylhydroxylamin viele Male hintereinander oxydiert und wieder reduziert wird. Von G. Seide wurde für Phenylhydroxylamin und p-Aminophenol eine Katalasehemmung nachgewiesen, die auch die tiefergreifende, unter Sprengung des Porphyrinringes einhergehende Veränderung am Blutfarbstoff zu Verdoglobin erklärt.

Zusammenfassung.

Es wurde die Löslichkeit von Sulfonamiden in Wasser, physiologischer Kochsalzlösung, Phosphatpuffern und Serum bestimmt. Unter Verwendung vorhandener Literaturangaben auch bezüglich Harn wurden daraus die für die Löslichkeit sich ergebenden Schlüsse gezogen. Die Löslichkeit der Sulfonamide hat sich als brauchbares Kriterium der Reinheit erwiesen. Azetylierung verändert die Löslichkeit in verschiedener Richtung. Mit steigendem p_H nimmt die Löslichkeit zu. Gemische freier und azylierter Verbindungen zeigen zum Teil Löslichkeitszunahmen. Die Löslichkeit im Serum ist bei einzelnen Verbindungen größer als in einer entsprechenden Pufferlösung. Die Löslichkeit im Harn hängt vom p_H und Pufferkapazität ab. Die azetylierten Verbindungen sind im Harn zum Teil schlechter löslich als im Serum. Jedes Sulfonamid zeigt neben seiner charakteristischen Löslichkeit hinsichtlich Abhängigkeit derselben von p_H und Pufferkapazität ein individuelles Verhalten. Unter den für die Sulfonamidkonzentration (im primären) und definitiven Harn maßgebenden Faktoren kommt der Rückresorption der Sulfonamide, insbesondere der freien, eine große Bedeutung zu.

In Bilanzversuchen an Ratten wurde nach peroraler und intravenöser Zufuhr von Sulfa-4-methylpyrimidin in großen Dosen ein beachtliches Defizit gefunden und das Vorkommen von nicht kuppelbaren Intermediärprodukten unter solchen Bedingungen diskutiert.

Lokale Anwendung von Sexualhormonen*.

Eine Anregung.

Von

ERNST LAQUEUR†

ehemaligem Direktor des Pharmako-therapeutischen Laboratoriums der Universität Amsterdam.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Bei der Mehrzahl der Pharmaka wissen wir heute zum Glück ziemlich vollständig, woraus sie bestehen und wieviel Ballaststoffe sie mitführen und dadurch zumindestens, was in den Körper hereinkommt. Aber auch von der chemisch reinen Substanz, selbst wenn wir diese haben, wissen wir nicht, ob sie überhaupt selbst zum „Erfolgsorgan" gelangt, geschweige dort unverändert zur Wirkung kommt.

Aus einer nicht allzugroßen Zahl von Erfahrungen wissen wir, daß lokal an die Wirkungsstätte herangebrachtes Material in viel kleinerem Ausmaß bereits seine Wirkung entfaltet.

Um mich an das mir am meisten bekannte Hormongebiet zu halten, so konnte MÜHLBOCK[1] bei uns zeigen, daß z. B. 0,000 05 μg Oestradiol in Glyzerin bei der Maus, intravaginal zugeführt, Brunstveränderungen hervorruft, die bei subkutaner Einspritzung erst durch die 1200fache Menge entstehen.

In dem von FUSSGÄNGER[2] eingeführten Test auf männliche Stoffe — die man zum „besseren Verständnis" jetzt allgemein „androgene" nennt — genügt beim unmittelbaren Aufpinseln auf den Kapaunenkamm, um ihn zum Wachstum zu bringen, $^1/_{50}$ der für denselben Effekt bei parenteraler Zufuhr nötigen Menge.

Beim Progesteron bringt man nach MC GINTY, ANDERSON und MC CALLOUGH[3] bei einem mit Oestron vorbehandelten Kaninchen mit 0,5 mg subkutan die charakteristischen progestativen Veränderungen im Uterus hervor, während nur $^1/_{1000}$—$^1/_{100}$ hiervon nötig ist, wenn man das Progesteron in Öl in die Höhle eines abgebundenen Teiles des Uterus einbringt; diese Versuche wurden von TAUSK und MENNEGA[4] völlig bestätigt.

---

* Herrn Prof. HEUBNER ein Zeichen meiner aufrichtigen Freundschaft zu geben gelegentlich seines 70. Geburtstages, ist mir ein Bedürfnis und ich bedauere aufrichtig, daß die Zeit zwischen der überraschenden Nachricht „WOLFGANG HEUBNER 70 Jahre alt!" und seinem Geburtstage zu gering ist, um ihm eine lohnende experimentelle Arbeit zu widmen, würdig ihm, einem der besten Vertreter unseres Faches, der sich so tapfer gegen die Nazi-Herrschaft gewehrt hat.

In grundsätzlich wichtigen Versuchen haben Gaarenstroom und de Jongh[5] gezeigt, daß bei Ratten in dem Interstitium des Hodens entstehende männliche Substanzen lebenserhaltend auf die Spermatogenese der im Interstitium eingelagerten Tubuli wirken; daß ferner solche männlichen Stoffe auch in loco im Ovarium auftreten und eine Bedeutung für die Höhlenbildung in den Follikeln, also ihrem Ausbau zu Graafschen Follikeln haben, auch wohl bei der Sprengung des Follikels für die Ovulation eine Rolle spielen.

Ph. Smith[6] hat auch etwa zur gleichen Zeit feststellen können, daß beim Affen intratestikuläre Einpflanzung von androgenen Tabletten eine vollständige Wiederherstellung der Tubuli bewirkt, die nach Hypophysektomie schwer beschädigt waren. Der günstige Effekt war am deutlichsten bei den in der Nähe der Tablette liegenden Tubuli, während weiter abliegende unbeeinflußt blieben.

Obwohl also alle diese *lokalen* Wirkungen bekannt sind, hat man dies kaum therapeutisch verwertet. Ich habe in letzter Zeit wiederholt in Vorträgen[7] darauf hingewiesen und Praktikern geraten, therapeutisch unsere Kenntnisse zu benutzen. In Einzelfällen hat man dies ja auch schon vorher getan und z. B. die gar nicht so seltenen Beschwerden in der Brust während und unmittelbar vor der Mensis durch Einreiben einer Salbe oder einer alkoholischen Lösung mit Testosteron zu beseitigen oder zumindesten zu lindern versucht.

Man hat auch Wachstum der Mamma bei unzureichender Entwicklung durch Einreiben mit oestrogenen Stoffen erzielt.

Auch oestronhaltige Vaginalkugeln wurden bei Scheidenkatarrhen ja vielfach mit gutem Erfolg benutzt.

Warum aber spritzt man nicht auch Oestron bzw. eine Kombination von Oestron und Progesteron in die Cervix oder in die Portio, um den infantilen Uterus zur Entwicklung zu bringen oder bei Amenorrhöen wieder eine Menstruation zu erzielen? Soweit ich weiß hat von ähnlichem bisher nur E. Schafft[8] berichtet. Warum keine intrauterinen Einspritzungen mit Testosteron bei *Myomen*, auch direkt in ein solches, nachdem besonders günstige Erfahrungen von französischer Seite mit intramuskulären Injektionen von Testosteronpropionat erzielt sind?

Aber auch eine lokale Behandlung bei *Sterilität von Männern* kommt in Betracht. Die eben erwähnte intratestikuläre Einpflanzung von Testosterontabletten bei Affen legt doch nahe, ähnliches bei Menschen zu versuchen, vielleicht aber statt Inplantation auch nur intratestikuläre Einspritzung von Testosteronlösungen oder -suspensionen. Man kann dagegen einwenden, daß verschiedene Autoren ungünstige Effekte von *parenteralen* Testosteroninjektionen gesehen haben. Aber das ist durchaus kein Motiv dagegen; im Gegenteil läßt dies die *lokale* Anwendung noch in besserem Licht erscheinen.

Durch die parenterale Zuführung kommt nur ein ganz kleiner Teil an die Testes, ein anderer aber an die Hypophyse. Auf diese bzw. deren gonadotrope Leistung hat aber Testosteron wie auch andere Sexualhormone einen ungünstigen Einfluß. Es ist also durchaus erklärlich, daß das parenteral zugeführte, sich überall im Körper verbreitende Hormon schädlich wirken kann. Die Menge androgenen Materials, die normalerweise in den Testes entsteht, ist wahrscheinlich zu klein, um die Hypophyse zu schädigen, aber groß genug, um den normalen Einfluß auf die Tubuli und auch auf die sekundären Geschlechtsmerkmale auszuüben.

In den Versuchen von Ph. Smith werden täglich nur etwa 0,5 mg resorbiert, die wohl größtenteils im Testisgewebe verschwinden und so nicht zur Hypophyse gelangen, bei der öfter benutzten parenteralen Therapie meist jeden 2. Tag 25 mg injiziert, worin also täglich wohl weniger als 0,025 mg an die Testes kommt.

Meine hiesigen Kollegen habe ich bisher noch nicht zur praktischen Anwendung bekommen und vielleicht lächeln die Praktiker auch über solche Vorschläge, aber darum ist nicht ausgeschlossen, daß man bei ihrer Befolgung zu einem praktischen Resultat kommt.

Literatur.

[1] Mühlbock: Acta brevia Neerlandica **10**, 42 (1940). — [2] Fussgänger: Medizin und Chemie, Bd. II, S. 194. J. G. Farben 1933. — [3] McGinty, Anderson and McCallough: Endocrinology (Am.) **24**, 829 (1939). — [4] Mennega: Acta brevia Neerlandica **10**, 94 (1940). — [5] Gaarenstroom and de Jongh: A contribution to the knowledge of influences of gonadotropic and sex hormones to the gonads of rats. New York and Amsterdam: Elsevier Publishing Comp., Inc. 1946. — [6] Smith, Ph.: Yale J. Biol. a. Med. (Am.) **17**, 281 (1944). — [7] Laqueur, E.: Über männliches Hormon in beiden Geschlechtern, Vorträge Febr. 1946 Ärzte-Gesellschaft in Stockholm und Upsala, März 1946 Naturforschende Gesellschaften Zürich und Basel, April 1946 Rutgers University New Jersey, Mai 1946 Academia Nacional Buenos Aires. — [8] Schafft, E.: Zbl. Gynäk. **63**, 788 (1939).

Lederle Laboratories, Pearl River, N.Y., USA.

Giftung und Entgiftung aromatischer Nitroverbindungen *.

Von

WERNER L. LIPSCHITZ †.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Es ist meinem verehrten alten Freunde HEUBNER nicht vergönnt, beschaulich und zufrieden auf eine lange Spanne erfolgreicher Tätigkeit im Dienste der Wissenschaft und seines Vaterlandes zurückblicken zu können. Noch ist die Welt in Dunkel gehüllt, die Gegenwart für alle bitter und die Zukunft fragwürdig. Die Gutgesinnten voll Überzeugungstreue haben Besseres gewollt als das, was sie nicht haben verhindern können. So sollen wenigstens von den mitstreitenden Überlebenden der Katastrophe, wo sie auch seien, Kerzen angezündet werden, und ihr Lichtschein möge dem Siebzigjährigen bedeuten, daß er nicht allein sei.

Die folgenden Ausführungen sollen den jetzigen Stand der Forschung auf einem Gebiet kurz darstellen, das HEUBNER selbst durch drei Jahrzehnte mit vielen experimentellen Beiträgen bereichert hat, und an dem der Verfasser gleichfalls ein aktives Interesse genommen hat. Sie waren nicht immer gleicher Meinung, aber es war stets, denke ich, ein ritterliches Turnier und ehrliches Bemühen um die Wahrheit, und so sind menschliche und wissenschaftliche Früchte nicht ausgeblieben.

Die aromatischen Nitrokörper, z. B. Nitrobenzol, Dinitrobenzole, symmetrisches Trinitrotoluol, sind keine unmittelbaren Blutgifte. Werden sie mit Oxyhämoglobinlösung in vitro vermischt, so bleibt der Blutfarbstoff lange unverändert. Werden sie aber einem Tier einverleibt, so tritt als charakteristische Erscheinung Methämoglobinämie ein. HEUBNER (1913) hat als erster darauf aufmerksam gemacht, daß die Blutfarbstoffveränderung also nicht auf die eingebrachte Substanz, sondern auf ein Umwandlungsprodukt zurückgeführt werden müsse. Er hat vor allem die Umwandlung Nitrobenzol → p-Aminophenol ⇄ Chinonimin diskutiert, eine Auffassung von der Rolle des in den Ausscheidungen nachgewiesenen Aminophenols als eines im Blut wirksamen Katalysators, die erklären würde, weshalb ein Molekül Nitrobenzol oder Aminophenol weit mehr Moleküle Hämoglobin in Methämoglobin umwandelt, als einer stöchiometrischen Reaktion entspricht. Später wurden experimentelle Befunde gemacht, die ein anderes Stoffwechselprodukt von aromatischen Nitro- oder Aminoverbindungen in den Vordergrund der Betrachtung rückten, nämlich β-Phenylhydroxylamine. Der Verfasser (1920) fand, daß überlebende reduzierende Gewebszellen, z. B. Froschmuskulatur, mit einer Aufschwemmung von Dinitrobenzol vermischt, diese farblose

* Herrn Prof. Dr. WOLFGANG HEUBNER zum 70. Geburtstag.

schwer wasserlösliche Substanz rasch in das löslichere gelbe Nitrophenylhydroxylamin umwandeln und (mit OSTERROTH, 1924) daß Nitronitrosobenzol dieselbe Umwandlung erleidet. PH. ELLINGER (1920) konnte aus dem Blut von mit Acetanilid behandelten Katzen N-acetylphenylhydroxylamin isolieren, und der Verfasser (1920) zeigte, daß eine Lösung von Anilin (in einer Endkonzentration von $0{,}15^0/_{00}$) Blut bei Körpertemperatur lange unverändert läßt, während die gleiche Mischung die durchblutete Hundeleber in etwa $^1/_2$ Stunde durch maximale Methämoglobinbildung zum Ersticken bringt. Alle untersuchten β-Phenylhydroxylamine sind durch starke Methämoglobinbildung in vitro charakterisiert, doch gibt die Anwesenheit dieser Substanzen allein keine ausreichende Erklärung für die von HEUBNER, MEIER und RHODE (1923) gefundene Tatsache, daß von einem Moleküle ein Mehrfaches an Methämoglobin gebildet wird, zumal, wie sie und der Verfasser (mit WEBER, 1924) beobachteten, Phenylhydroxylamin auf reduziertes Hämoglobin nicht wirkt (HEUBNER und LO-SING, 1938). In der weiteren Folge jedoch fand JUNG (unter HEUBNER, 1940), daß Phenylhydroxylamin in vitro durch Oxyhämoglobin zu Nitrosobenzol oxydiert werden kann, während der Blutfarbstoff selbst in Methämoglobin übergeht. Nitrosobenzole aber sind gleichfalls unmittelbare Methämoglobinbildner (HEUBNER, 1923; Verfasser und OSTERROTH, 1924), die bei Oxydation des Blutfarbstoffes oder im Stoffwechsel der Zellen wieder zu Phenylhydroxylaminen reduziert werden. So stellte sich der biochemische Vorgang der Giftung von aromatischen Nitro- und Aminokörpern durch die gemeinsamen Bemühungen in folgender Weise dar:

$$R \cdot NO_2 \xrightarrow{+H_2} R \cdot NO \underset{+O}{\overset{+H_2}{\rightleftarrows}} R \cdot NH \cdot OH \xleftarrow[+O]{} R \cdot NH_2$$

Blutgiftigkeit: 0 + +++ 0

Als Entgiftungsprodukte von aromatischen Mononitro- oder Monoaminokörpern waren schon vor langer Zeit von SCHMIEDEBERG, JAFFÉ und HILBERT Kuppelungsprodukte von Aminophenolen mit Schwefelsäure oder Glucuronsäure im Harn nachgewiesen worden. Es ist jedoch eine offene Frage, auf welche Weise p-Aminophenol aus Nitrobenzol oder Anilin entsteht. Man hat an 2 Möglichkeiten zu denken, eine Ringoxydation in p-Stellung zum Stickstoff oder eine der bekannten Semidinumlagerung durch Säure entsprechende biologisch hervorgerufene Sauerstoffwanderung im β-Phenylhydroxylamin:

Eine lehrreiche Studie über die Umwandlung und Ausscheidung von Acetanilid im menschlichen Körper wurde kürzlich von L. A. Greenberg und D. Lester[1] veröffentlicht. Sie fanden im Harn weder freies Anilin noch Aminophenol, 0,2—0,6% Acetanilid, wenige Prozent N-acetylaminophenol und 70—90% gekuppeltes p-Aminophenol. Ferner ist der Befund von F. und M. C. L. Bernheim[2] bemerkenswert, daß p-Aminophenol mit Sauerstoff und Leberschnitten bei 37° C geschüttelt nicht zu Chinonimin oxydiert wird.

Im Falle der Polynitrokörper ist die Reduktion zu Nitranilinen als der Hauptvorgang recht wahrscheinlich geworden, die jedenfalls als die Reaktionsendprodukte im Zellversuch nachgewiesen wurden (Verfasser): $R \cdot NO_2 \rightarrow R \cdot NH \cdot OH \rightarrow R \cdot NH_2$.

Von besonderem Interesse scheint die Kinetik der biologischen Reduktion der Nitrokörper, die ursprünglich an Froschmuskelzellen studiert wurde (Verfasser, 1920). Es zeigte sich, daß Nitrosauerstoff und gasförmiger Sauerstoff um den Dehydrierungswasserstoff der Zellbrennstoffe konkurrieren, so daß unter anaeroben Bedingungen die Nitroreduktion maximal, in O_2-gesättigtem Medium minimal ist. Sie ist ebenso wie der Sauerstoffverbrauch der Zelle weitgehend an die Intaktheit der Zellstruktur gebunden, wird durch allgemeine Narkotika nach ihren Strukturwirkungsstärken gehemmt und durch vorheriges Erhitzen der Zellen auf 80° C fast völlig aufgehoben. Für die Nitroreduktion wie die Zellatmung ist die Anwesenheit des thermostabilen, damals sog. „Coferments der Atmung“ (Meyerhof) oder sein Ersatz durch z. B. Bernsteinsäure notwendig. Gegen Blausäure ist die Nitroreduktion, soweit sie an eine Schwermetallkatalyse der Zelle gebunden ist, hochgradig empfindlich; doch wird sie entsprechend der Sauerstoffatmung der Muskelzelle auch durch hohe HCN-Konzentrationen nur zu 60—70% gehemmt, während die Restkatalyse durch schwermetallfreies Atmungsferment (Warburg) bewirkt wird.

Die Anhäufung von Phenylhydroxylamin im Verlauf der Nitroreduktion kommt dadurch zustande, daß die Geschwindigkeit der beiden ersten Reduktionsschritte groß im Verhältnis zu der des letzten Schrittes, Aminbildung, ist.

Bemerkenswert ist noch, daß, während die aromatischen Nitrokörper selbst, ebenso wie ihre Reduktionsendprodukte, eine geringe Zellgiftigkeit besitzen, die intermediären Produkte vom Typus der Hydroxylamine sehr giftig für Zellen wie für den Blutfarbstoff sind.

In neuester Zeit ist die Frage nach Giftung und Entgiftung aromatischer Nitrokörper hauptsächlich am symmetrischen Trinitrotoluol

[1] Greenberg, L. A. and D. Lester: J. Pharmacol. (Am.) 88, 87 (1946). — [2] F. and M. C. L. Bernheim: J. biol. Chem. (Am.) **123**, 307 (1938).

wieder aufgenommen worden. B. B. WESTFALL[3] fand in Übereinstimmung mit den alten Versuchen des Verfassers, daß eine Aufschwemmung von zerriebenem Muskelgewebe in Phosphat nur wenig befähigt ist, diese Substanz zu reduzieren, daß aber andere Gewebe, besonders Leber, Niere und Herz von Warmblütern, diesen Vorgang mit meßbarer Geschwindigkeit katalysieren. Ganz wie im Falle des Dinitrobenzols wird der Vorgang fast vollständig aufgehoben, wenn die Zellen vorher 10 Min. auf 80° C erhitzt wurden, oder die Aufschwemmung maximal sauerstoffgesättigt ist, oder wenn das Gewebe wasserextrahiert wurde, während umgekehrt Anaerobiose oder Zusatz von Bernsteinsäure die Reduktion begünstigen. Das entstandene Reduktionsprodukt war Dinitroaminotoluol. Dieselben Ergebnisse wurden von WESTFALL[4] mit einem Bernsteinsäuredehydrasepräparat aus Rinderherz erhalten (siehe jedoch später!). Gleichzeitig wurde der Stoffwechsel des Trinitrotoluol im Kaninchen einer sehr gründlichen Untersuchung durch H. J. CHANNON, G. T. MILLS und R. T. WILLIAMS[5] unterworfen. Es gelang ihnen, aus dem Harn das kristallisierte 2,6-Dinitro-4-hydroxylaminotoluol selbst (F.P. 139° C) und durch Benzaldehydbehandlung sein i-Benzaldoxim (F.P. 211—213° C), ferner 2,6-Dinitro-4-aminotoluol (F.P. 174° C) und 2,4-Dinitro-6-aminotoluol (F.P. 176° C) zu isolieren und zu identifizieren. Sie zeigten auch, daß das von MOORE[6], DALE[7] und WEBSTER[8] isolierte Tetranitroazoxytoluol kein Stoffwechselprodukt des Trinitrotoluols ist, sondern ein durch die chemische Aufarbeitung des Harnes entstandenes Kunstprodukt; in frisch gelassenem Harn ist es nicht enthalten. Als weitere Stoffwechselprodukte wurden Trinitrobenzylalkohol und Dinitroaminobenzylalkohol wahrscheinlich gemacht, die durch Oxydation der Methylgruppe des Toluols entstanden waren und, an Glucuronsäure gekuppelt, ausgeschieden wurden.

Eine enzymatische Reduktionsstudie am Trinitrotoluol schließlich ist vor kurzem von E. BÜDING und M. JOLLIFFE[9] veröffentlicht worden. Sie fanden, daß Trinitrotoluol in einem System bestehend aus reduziertem Diphosphopyridinnucleotid (WARBURG) + reinem Flavoprotein (F. B. STRAUB) + Lactat — besonders schnell unter anaeroben Bedingungen — reduziert wird; das erste Reduktionsprodukt ist wahrscheinlich Nitroso-dinitrotoluol. Durch Xanthinoxydase + Xanthin wird die Reduktion weiter getrieben bis zum Hydroxylamino-dinitrotoluol, durch

[3] WESTFALL, B. B.: J. Pharmacol. (Am.) **78**, 386 (1943). — [4] WESTFALL, B. B.: J. Pharmacol. (Am.) **79**, 23 (1943). — [5] CHANNON, H. J., G. T. MILLS and R. T. WILLIAMS: Biochem. J. (Brit.) **38**, 70 (1944). Siehe auch R. LEMBERG and CALLAGHAN: Nature (Brit.) **154**, 768 (1944). — [6] MOORE: Spec. Rep. Ser. Med. Res. Coun., Lond. **12**, 16 (1917). — [7] DALE: Spec. Rep. Ser. Med. Res. Coun., Lond. **58**, 53 (1921). — [8] WEBSTER: Spec. Rep. Ser. Med. Res. Coun., Lond. **58**, 49 (1921). — [9] BÜDING, E. and M. JOLLIFFE: J. Pharmacol. (Am.) **88**, 300 (1946).

Enzyme in Extrakten aus Schweinsleber bis zum 2,6-Dinitro-4-aminotoluol, das kristallisiert (F.P. 170—171°C) und identifiziert wurde. Tetranitroazoxytoluol, das aus den Xanthinoxydase-Ansätzen isoliert wurde, wurde von diesen Autoren ebenfalls als ein chemisches Kunstprodukt angesprochen. Die entsprechenden oben geschilderten Resultate Westfalls mit Bernsteinsäuredehydrase, die sie zwar mit einem rohen, nicht aber einem hochgereinigten Enzympräparat reproduzieren konnten, wurden von ihnen so gedeutet, daß Westfalls Präparat noch Diphosphopyridinnucleotid enthielt. Die Autoren fanden auch, daß Trinitrotoluol im Zuge dieser Reduktionsfolge zunächst rasch in Substanzen (Nitroso- und Hydroxylaminotoluole) umgewandelt wird, die die Zellatmung stark hemmen, während das langsamer entstehende Reduktionsendprodukt ihr gegenüber indifferent ist. Der Wasserstofftransport des ersten Reduktionsschrittes wird folgendermaßen erläutert:

$$\text{Milchsäure} \xrightarrow{H_2} \text{Milchsäuredehydrase} \xrightarrow{H_2} \text{Diphosphopyridin-nucleotid} \xrightarrow{H_2} \text{Flavoprotein} \xrightarrow{H_2} NO_2 \cdot R.$$

Das Gesamtresultat aller dieser Arbeiten bestätigt, daß das Haber-sche Schema der Elektroreduktion aromatischer Nitroverbindungen auf die Enzyme der Körperzellen anwendbar ist, und daß die Giftung und Entgiftung dieser Substanzen mit der Bildung der erörterten Reduktionssubstanzen zu erklären ist.

Das Verständnis der Biologie der Nitrosprengstoffe mag mit der menschlichen Erfahrung versöhnen, daß „seelische Giftungsvorgänge" rasch, die folgenden „Entgiftungsvorgänge" langsamer ablaufen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Giftung aromatischer Nitroverbindungen.

Von

Wolfgang Heubner.

(Eingegangen am 7. Juli 1947.)

Zu der dankenswerten, übersichtlichen Darstellung von Lipschitz sei mir ein kurzes Wort gestattet; die Reaktionsfolge, die er auf S. 306 wiedergibt:

$$R \cdot NO_2 \xrightarrow{+H_2} R \cdot NO \underset{+O}{\overset{+H_2}{\rightleftharpoons}} R \cdot NH \cdot OH \xleftarrow[+O]{} R \cdot NH_2,$$

ist nach unseren Untersuchungen zwischen den beiden mittleren Gliedern noch zu unterteilen, und zwar in folgendem Sinne:

$$R \cdot NO \underset{+OH}{\overset{+H}{\rightleftharpoons}} R \cdot NH \cdot O \underset{+OH}{\overset{+H}{\rightleftharpoons}} R \cdot NH \cdot OH.$$

Das dabei eingeführte *Radikal* (mit „4wertigem" Stickstoff) ist nach meiner Ansicht das eigentliche Oxydationsmittel für das Hämoglobineisen bei der Bildung von Methämoglobin (Hämiglobin); es nimmt mit einem Wasserstoffion das Elektron auf, das vom Eisen abgegeben wird, und reagiert immer wieder in dieser Weise, sobald das Hydroxylamin oxydiert wird, also *ehe* diese Oxydation bis zur Nitrosostufe fortschreitet.

Argumente für diese Auffassung sind die folgenden:

1. Aus allgemeinen theoretischen Gründen ist die *ein*stufige Oxydoreduktion viel wahrscheinlicher als eine zweistufige.

2. Die Bildung von Hämiglobin (Methämoglobin) durch Nitrosoverbindungen verläuft in vitro und in vivo deutlich langsamer als durch die entsprechenden Hydroxylamine.

3. Die von Jung erkannte Nitrosobenzol- (oder Nitrosotoluol-) Verbindung des Hämoglobins ist unter gewöhnlichen Bedingungen lange Zeit beständig; sie liefert aber *sofort* Hämiglobin, sobald ein *Reduktions*mittel darauf einwirkt.

4. Andererseits ist Phenylhydroxylamin bei Ausschluß von Sauerstoff ebenfalls *ohne* Einfluß auf den Blutfarbstoff. Offensichtlich liegt also die auf das Eisen wirkende Oxydationsstufe *zwischen* Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin.

5. Stabile Verbindungen mit „4wertigem" Stickstoff, wie Porphyrexid und Porphyrindin, reagieren mit Blutfarbstoff augenblicklich unter Bildung der stöchiometrisch möglichen Menge Hämiglobin (Methämoglobin) und damit ist die Reaktion zu Ende.

Literatur.

Heubner, Wolfgang: Erg. Physiol. **43**, 9 (1940). — Klin. Wschr. **1942**, 961. — Jung, Fritz: Biochem. Z. **305**, 248 (1940). — Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 208 (1940).

Aus dem Hilfskrankenhaus Nord der Stadt Kiel.

Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus der Sympathikomimetika.

XVI. Klinische Anwendung der Sensibilisierung der peripheren Sympathikusendigungen. Intravenöse „Novocain"-Therapie *.

Von

Rudolf Mancke und Gerhard Orzechowski.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Nach H. H. Meyer [1] wird die Gruppe der Adrenalinabkömmlinge unter dem Namen „Sympathomimetika" zusammengefaßt. Wir sagen lieber „Sympathikomimetika", wie wir auch von „Sympathikotonie" und „Sympathikotropie" sprechen. Die „Sympathikomimetika" sollen wie der Sympathikus und nicht über die Sympathie wirken.

H. H. Meyer schreibt in seinem bekannten Buch: „Die hier angeführten Verwandten des Adrenalins sind durchweg Stoffe, welche Reaktionen auslösen, wie sie in ähnlicher Weise auch durch Erregung sympathischer Nerven entstehen; es wird daher die ganze Gruppe unter dem Namen ‚Sympathomimetika' zusammengefaßt. Dabei bestehen aber zwischen den einzelnen der Phenylalkylbasen je nach der chemischen Zusammensetzung quantitative und qualitative Wirkungsunterschiede, wobei die Stellung der OH-Gruppen sowie die Art und Stellung des Alkyl-Radikals in der Seitenkette maßgebend zu sein scheint. Aus Untersuchungen über verschiedene Abkömmlinge des Adrenalins einerseits und des Ephedrins andrerseits ergibt sich, daß die sympathomimetischen Stoffe in zwei Körpergruppen sich teilen lassen, nämlich 1. in die Adrenalin-Gruppe', welche Basen umfaßt, die ihre Wirkung an den Erfolgsorganen an den sympathischen Nerven, (Muskel selbst oder ‚myoneurale Substanz') geltend machen — sofern sie auch nach Nervendegeneration wirksam bleiben —, und die deshalb als ‚myotrop' (oder sympathomimetisch im engeren Sinn) zu bezeichnen sind, und 2. in die ‚Ephedringruppe', deren Glieder am nervdegenerierten Muskel nicht mehr wirken, daher ihren Angriffspunkt im sympathischen Nerven selbst haben und als ‚neurotrop' (oder sympathikotrop) bezeichnet werden können."

Der eine von uns hat sich in einer ganzen Anzahl von pharmakologischen Untersuchungen mit den sympathikotropen Stoffen beschäftigt[2]. Dabei wurde eine Arbeitshypothese entwickelt, die die Vorstellung der Einzelheiten des Wirkungsmechanismus dieser Stoffe erleichtert und eine Reihe von klärenden Versuchsergebnissen gebracht hat. Es wird angenommen, daß dem Vorgang des Wirksamwerdens einer chemischen Substanz im Sinne einer pharmakologischen Wirkung eine chemische oder physikochemische Reaktion mit einem Körpersubstrat zugrunde liegt.

---

*) Herrn Professor Wolfgang Heubner zum 70. Geburtstag.

Man kann sich nur schwer entschließen, der pharmakologischen Wirkung eine geheimnisvolle Veränderung der Funktionen zuzuordnen. Seitdem wir wissen, daß die physiologische Nervenerregung meist planmäßig über die Freisetzung einer pharmakologisch wirksamen Substanz verläuft, ist die Neigung, hinter den Begriffen „Reiz" und „Lähmung" transzendente Ursachen zu vermuten, sehr viel geringer geworden. „Exakte Betrachtung bei Heilproblemen mit chemischen Substanzen muß bei der chemischen Natur und der chemischen Konstitution ansetzen, denn schließlich und endlich ist so oder so alle Medikamentwirkung Chemie. Sie kann reine physikalische Chemie sein, wie z. B. die Narkose; sie kann auch konstitutionschemische Chemie sein, wie es die Chemotherapie in anspruchsvoller Weise von sich behauptet" (W. Straub[2a]). Die Auffindung der humoralen Übertragbarkeit von Nervenwirkungen hat manche neue Gesichtspunkte gebracht. Die feineren Verschiedenheiten zeigen für den Sympathikus, daß neben der Tatsache des Herantretens der wirksamen Substanzen an die spezifischen Strukturen der Endigungen auch noch andere Faktoren eine Rolle spielen dürften.

Dabei ist natürlich anzunehmen, daß die chemische Struktur beider Reagenten wichtig ist. Empfindliche, leicht zerstörbare Substanzen werden a priori kurz und bei genügender Wirksamkeit stoßartig wirken. Weniger empfindliche Stoffe können eine länger andauernde Wirkung entfalten. Der Ablauf der Wirkung ist dann in erster Linie wohl von dem Wirkungspotential und weniger vom Abbau des Stoffes abhängig. Dagegen muß sich nunmehr die Haftfähigkeit der Stoffe in den spezifischen Grenzflächen bemerkbar machen. Bei guter Haftfähigkeit muß es möglich sein, die spezifischen Strukturen der Grenzflächen so zu belegen, daß nicht mehr genügend Platz für später an sie herantretende Substanz desselben oder ähnlichen Baumusters vorhanden ist. Eine solche Veränderung führt notwendigerweise zum Verlust der Wirksamkeit der Stoffe. Handelt es sich um eine Abschirmung des gleichen Stoffes von den Endigungen, dann entsteht ein Zustand, den man in der Pharmakologie „Tachyphylaxie" nennt. Schirmen sich verschiedene Stoffe gegenseitig ab (mutuelle Tachyphylaxie), dann spricht man wohl auch von „Sympathikolysis". Als wohlbekannte Beispiele können angeführt werden: Für den ersten Fall Ephedrin gegen Ephedrin, für den zweiten Fall Ergotamin oder Ergotoxin gegen Adrenalin.

Aus einer Reihe von pharmakologischen Untersuchungen[2] hat sich ergeben, daß man mit Ephedrinderivaten die Grenzflächen der sympathisch innervierten Elemente so gründlich belegen kann, daß sie auch auf Adrenalin praktisch nicht mehr ansprechen. Auf der anderen Seite konnten Reaktionsabläufe gefunden werden, die eine ephedrinartige Wirkung der Sekalealkaloide demonstrierten. Diese Versuche dienten letzten Endes dem Beweis, daß die sich gegenseitig tachyphylaktisch in der Wirkung beeinflussenden Stoffe am gleichen Wirkungssubstrat angreifen. So bekommt man eine Erweiterung der Klasse der sympathikotropen Stoffe. Bei der vorwiegend chemischen Erklärung des Phänomens der Tachyphylaxie und der Sympathikolysis lag es nahe, diese

pharmakologische Wirkung in engste Beziehung zur chemischen Konstitution der sie verursachenden Stoffe zu setzen. Dabei ist die Frage nach der Konstitutionsspezifität der Stoffe gegeben. Bei der großen Zahl der bekanntgewordenen Sympathikomimetika konnte mit einer geringen Konstitutionsspezifität gerechnet werden. Wichtig ist anscheinend ein (aromatischer) Ring und eine stickstoffhaltige Seitenkette. Dieser Forderung entsprechen auch manche Lokalanästhetika, am deutlichsten das „Novocain„*. Mit „Novocain", „Pantocain"* und Kokain konnte das Phänomen der Tachyphylaxie leicht demonstriert werden. Später konnten auch mit Tyrosin ähnliche Wirkungen am Sympathikusende erlangt werden[2]. Zur Stützung der Hypothese, daß der Tachyphylaxie eine stoffliche Blockade spezifischer Grenzflächen zugrunde liegt, wurden Modellversuche an der Adrenalinoxydase durchgeführt[2]. Hierbei zeigte das „Novocain" und das „Pantocain" eine dem Ephedrin äquimolekulare Hemmungswirkung.

Bei den Untersuchungen aller ephedrinartigen Körper war ein anderes Phänomen aufgefallen. Kleine Mengen der Stoffe führten zu einer auffallenden Sensibilisierung des Kreislaufes gegen Adrenalin[2]. Diese Erscheinung erwies sich als ebenso konstant für die untersuchten Tachyphylaktogene wie das oben beschriebene Phänomen der Tachyphylaxie selbst. Die zugrunde liegenden physikochemischen Vorgänge sind uns vermutungsweise bekannt, konnten aber aus äußeren Gründen noch nicht im Modellversuch nachgeprüft werden.

Die Ergebnisse der Versuche über Sensibilisierung der peripheren Sympathikusendigungen konnten indessen bereits klinisch ausgewertet werden.

Die unmittelbare Veranlassung dazu war die Kenntnisnahme eines Referates über eine in der Zeitschrift für ärztliche Fortbildung (41, Nr. 23/24) erschienene Veröffentlichung von Hans Jenning über die Behandlung des Asthma bronchiale mit intravenöser Zufuhr von „Novocain". Das Referat erschien in den Folia therapeutica und hatte folgenden Wortlaut:

„Die Kranken erhalten bis zu 10 intravenöse Einspritzungen einer sterilen 1%igen Lösung von Novocain in physiologischer Kochsalzlösung, anfangs täglich, dann mit ein- und zweitägigen Zwischenräumen, angefangen mit 5—8 ccm, dann steigend auf 15 und 20 ccm je Injektion. Dem Alter, Kräftezustand und Erfolg werden die einzuspritzenden Mengen natürlich angepaßt. Die Injektionen müssen langsam erfolgen — 1 ccm in einer halben Minute — um unerwünschte Nebenerscheinungen (Blutdrucksenkung, Puls- und Atembeschleunigung, Hitzegefühl, Ohrensausen, Schwindel, Blässe, Erbrechen) zu vermeiden, die aber, *wenn sie auftreten, nach kurzer Zeit* wieder verschwinden.

Mit bestem Erfolg habe ich, wo es mir zweckmäßig erschien, die Novocainlösung zusammen mit Kalzium und Strophil als Mischspritze gegeben. Bei besonders schweren Fällen von Status asthmaticus mußte ich einige Male Asthmolysin oder Perphyllon anfangs zusätzlich geben. Die üblichen bewährten allgemeinen Behandlungsmethoden (wie Atemübungen, Diät, Ruhe usw.) wurden natürlich auch verordnet."

Nach Abschluß unserer Arbeit haben wir durch die Freundlichkeit eines Kollegen* die Originalveröffentlichung von Jenning erhalten. Er schreibt:

„Durch irgendwelche Noxen (z. B. Allergene) entstehen im zentralen Vasomotorenzentrum Fehlsteuerungen, die sich in Störungen der Blutzirkulation in den Lungen auswirken. Durch nun eintretende Exsudation und Entzündungen werden schmerzadäquate Reize gebildet, die über den Sympathikus den Ganglienzellen in den Hinterhörnern zugeleitet werden. Durch dauerndes Zuströmen neuer, an sich unterschwelliger Reize werden diese Ganglienzellen in den überschwelligen Erregungszustand versetzt. Die jetzt weiterhin ankommenden Reize werden nunmehr dem Zentrum für die Steuerung des sympathisch-parasympathischen System zugeleitet. Das bis jetzt noch vorhanden gewesene Gleichgewicht des Systems wird zerstört, und bei der vagotonischen Konstitution gewinnt der Parasympathikus das Übergewicht; es resultiert daraus der Asthmaanfall. Werden nun die sympathischen Leitungsbahnen nach den im überschwelligen Reizzustand befindlichen Ganglienzellen in den Hinterhörnern unterbrochen, so können keine weiteren Reize mehr dorthin gelangen. Die im überschwelligen Reizzustand befindlichen Ganglienzellen haben jetzt die Möglichkeit, wieder in den Ruhezustand überzugehen; eine Weiterleitung der Reize nach dem sympathisch-parasympathischen Zentrum kann nicht mehr stattfinden, das sympathisch-parasympathische Gleichgewicht stellt sich wieder her und der Asthmaanfall klingt ab . . .

Ich nehme dabei an, daß hierbei die Blockierung in den sympathischen Endigungen im Lungengewebe, als dem ersten wesentlichen Angriffsort des Novocains, stattfindet. Das Resultat der Einspritzung ist ebenfalls eine „Heilung" des Asthmas. Es genügt zwar nicht, eine einmalige Sympathikusblockade mit dieser Methode herbeizuführen, sondern nach meinen bisherigen Erfahrungen sind öftere Injektionen vorzunehmen, um die Normalisierung im zentralen vegetativen Apparat herbeizuführen."

Die Originalarbeit von Jenning zeigt ferner, daß er seine Versuche auf ein Referat einer Arbeit von Aménille hin begonnen hat. Da uns selbst keine Literatur zur Verfügung stand, wurde die Herstellerfirma des „Novocain"** gebeten, uns ihre Literatur zur Verfügung zu stellen. Das ist geschehen, wir sind Herrn Dr. Schümann dafür zu besonderem Dank verpflichtet. Das Studium der Literatur hat uns nachträglich mit einigen Arbeiten bekannt gemacht, die sich ebenfalls mit der Anwendung des „Novocains" beim Asthma bronchiale befassen.

Ghall, Bourdin und Guiot[3] injizierten, um bei Dyspnoeen „die peripheren autonomen bronchopulmonalen Zentren" mehr direkt zu erreichen, 5 ccm einer 1%igen Novocainlösung in physiologischer Kochsalzlösung langsam (am besten in 75 Sek.) in die Kubitalvene und wiederholten diese Injektion nach zwei Stunden. Oder sie machten eine intravenöse Tropfinfusion mit 0,35 g Novocain in einem Liter phys. Kochsalzlösung, 50—70 Tropfen in der Minute. Es wurden angeblich „sehr schöne Erfolge" erreicht, d. h. vollständige Beseitigung des Anfalls in etwa einer Minute, und zwar dreimal bei Asthmazuständen, wo jedes andere Mittel versagte. Weitere „schöne Erfolge" berichten die Verf. bei anderen Kranken mit paroxystischem Asthma, häufige und deutliche Erfolge bei fortgeschrittenen dyspnoischen Tuberkulosen und bei Emphysematikern, eine sofortige Wirkung bei einer Lungenembolie post operationem, wo alle Mittel versagten, und schließlich ein anscheinender Erfolg bei zwei Patienten mit Hämoptoe.

Ghall, Bourdin und Guiot[4] schreiben in einer zweiten Mitteilung, daß sie bis zu 20 ccm der 1%igen Lösung langsam (in 7 Min.) injiziert haben (intravenös)

---

* Herrn Dr. Peters (Preetz) danken wir dafür auch an dieser Stelle.

** Geschützter Name.

und bei 700 Novocaininjektionen keinen Zwischenfall erlebt haben. Dabei war der Erfolg gut bei Asthma, bei Lungenembolie und bei Beschwerden nach Art der Angina pectoris.

Vanhaecke, Breton und Guidoux[5] sahen bei der intravenösen Novocaintherapie des reinen Asthmas bei 11 Kranken 2 Dauerheilungen, 1 Besserung, 3 mäßige Besserungen und 1 Verschlechterung. Auch bei Warembourg sollen die Erfolge nicht gut gewesen sein. Bessere Ergebnisse sahen sie bei „asthme intriqué" (asthma symptomaticum): Von 19 Kranken wurden 3 dauernd geheilt, 6 stark gebessert, während 10 fast stationär blieben. Im allgemeinen wurden Kuren zu 10 Injektionen in 20 Tagen gegeben. Jede Injektion — 0,10—0,20 erschien meistens wirksam — erfolgte in 1—2 Min.

Pintos[6] hat bei Asthmakranken, die bis dahin nicht beeinflußt werden konnten, langsam intravenös 1%ige Novocainlösung in 250 Einzelinjektionen injiziert. Die Verträglichkeit war gut, wenn er nicht zu rasch injizierte. Es wurden jeden zweiten Tag 10 ccm gegeben, und zwar 1 ccm in 15 Sek., gelegentlich nach 5 ccm Pause bis zu 5 Min. Bei den 7 Kranken gelang es, die Anfälle über Wochen zum Verschwinden zu bringen.

Breton, Vanhaecke und Guidoux[7] stellen die Ergebnisse der intravenösen Novocainkur bei 45 Kranken zusammen:

	Dauererfolge	starke Besserung	mittlere Ergebnisse	Mißerfolge	Verschlimmerungen
Reines Asthma	2	1	3	4	1
Asthma „intriqué" zusätzliches exsudatives Element	3	6	6	4	—
asthmatiforme dyspnoe .	2	1	1	3	2
paroxystische Erstickungs-Laryngo-Tracheitis . .	2	2	—	—	—
Dyspnoe und Zyanose bei akuter Pneumonie . .	2	—	—	—	—

Bei diesen Kranken hatten alle anderen üblichen therapeutischen Mittel versagt. Wichtig ist nach der Meinung der Autoren die zähe Durchführung auch langer Serien von intravenösen Novocaininjektionen.

Nach den eingangs besprochenen experimentell-pharmakologischen Vorarbeiten war uns der mögliche therapeutische Wert dieses Vorgehens ohne weiteres klar. Es gelingt, mit „Novocain" die peripheren Erfolgsorgane des Sympathikus gegen Adrenalin zu sensibilisieren. Wenn die Sensibilisierung so weit geht, daß die Wirkung des vom Nebennierenmark abgesonderten Adrenalins über die Schwelle der Wirksamkeit gehoben wird, dann ist die Wirkung der „Novocain"-Zufuhr beim Asthma bronchiale (nervosum) leicht zu verstehen.

Aber nicht alle Fälle von Asthma bronchiale werden in gleicher Weise auf die parenterale Zufuhr von „Novocain" reagieren. Theoretische Voraussetzung für die Wirkung ist eine genügende Absonderung von Adrenalin durch die Nebenniere des Patienten. Die Adrenalinmenge muß groß genug sein, um nach Sensibilisierung mit Sicherheit überschwellig zu werden. Absolute Voraussetzung für das Gelingen dieser Therapie ist freilich, daß es sich auch wirklich um ein echtes

Asthma nervosum handelt. Hier kann der Erfolg der Therapie als pharmakologischer Test gewertet werden. Reagiert ein Fall von vermutlichem Asthma bronchiale auf „Novocain" nicht, auch nach künstlicher Ergänzung eines bestehenden Adrenalindefizits nicht, dann wird die Diagnose zu überprüfen sein. Dagegen sind nicht immer Dauerheilungen zu erwarten. Das Asthma bronchiale oder Asthma nervosum ist nach F. A. Hoffmann [8] definiert als eine „Neurose im Gebiet der Respirationsnerven, welche in Anfällen von Atemnot mit eigentümlicher Sekretion und Lungenblähung einhergeht". Der englische Arzt Willis [9] ist als der Begründer der Lehre von der nervösen Natur des Asthmaanfalles anzusehen. Laennec [10] erkannte als wesentlich einen Spasmus der feineren Bronchien. Eppinger und Hess [11] bezeichneten die Vagotonie als disponierende Ursache des Asthmas. Sie verstanden darunter eine funktionelle Tonussteigerung im parasympathischen Nervensystem. Als Erscheinungen der Vagotonie nennen sie: Laryngospasmus, Asthma, nervöse Dyspepsie, Colica mucosa, spastische Obstipation, respiratorische Arrhythmie des Herzens, Herzneurosen, Eosinophilie und Lymphozytose im Blut. Nach Auffassung von Eppinger und Hess soll die exsudative Diathese Czernys eine infantile Form der Vagotonie sein. Der Vagotoniebegriff ist in späterer Zeit nicht allgemein anerkannt worden.

Für die Entstehung des Asthmaanfalls standen sich drei Theorien gegenüber: 1. Der Zwerchfellkrampf (Wintrich [12]), 2. der Bronchialmuskelkrampf (Biermer [13]) 3. die Schwellung der Bronchialschleimhaut (Weber [14]). Heute hat man sich anscheinend für die überwiegende Wichtigkeit des Bronchialmuskelkrampfes entschieden. Die Argumente für diese Anschauung sind vorwiegend pharmakologischer Art: Atropin beseitigt den Asthmaanfall zumeist, löst im Tierexperiment Bronchialmuskelkrämpfe, ohne jedoch einen deutlichen Einfluß auf die Schwellung der Schleimhaut und die Sekretion mit der zu fordernden Schnelligkeit auszuüben. Die Wirkung des Adrenalins ist am einfachsten als Erregung der Hemmungsnerven der Bronchialmuskulatur zu verstehen.

Bei etwa 40 Asthmafällen ist die parenterale „Novocain"-Zufuhr nunmehr erneut erprobt worden. Es mag vorweggenommen werden, daß wir bei echten Fällen von Asthma nervosum immer den gewünschten Erfolg gehabt haben. Dabei erwies sich die Substanz nicht nur bei intravenöser, sondern auch bei intramuskulärer Zufuhr als voll wirksam.

Wir sind dabei im einzelnen so vorgegangen, daß vor jeder Erstinjektion auf eine etwaige Überempfindlichkeit gegen „Novocain" geprüft wurde. Die Patienten erhielten 5—10 mg „Novocain" intravenös. Diese Injektion erfolgte als Sicherheitsvordosis. Wenn keine unerwünschte Reaktion beobachtet wurde, folgte nach 2 Stunden die Hauptmenge meist 0,5% in Kochsalzlösung. Dabei ist auf einwandfreie Sterilität besonders zu achten, da sonst — wahrscheinlich durch Sensibilisierung der (sympathischen!) Fieberzentren — leicht eine sehr starke Fieberreaktion eintritt, die besonders in der ambulanten Praxis peinlich werden könnte. Wir haben solche Reaktionen bei Verdünnung einer 2%igen „Novocain"-Lösung mit einer Kochsalzlösung erlebt, die bei Infusionen alleine keine Beanstandung erfahren hatte. Bei Verdünnung mit Traubenzuckerlösung aus Ampullen dagegen haben wir niemals eine Fieberreaktion erlebt.

Die erste Erprobung der Asthmatherapie mit „Novocain" erfolgte an einer asthmakranken Krankenschwester, die ihr Asthma sehr genau kannte. Sie gestaltete sich sehr eindrucksvoll. Während der langsamen intravenösen Injektion löste sich hörbar der Bronchialmuskelkrampf.

Die Schwester gab an, nach Zufuhr von 50 mg „Novocain" 12 Stunden Ruhe gehabt zu haben, während ihr „Asthmolysin" nur für 2 Stunden Linderung brachte. Aus Sparsamkeitsgründen soll auf die Wiedergabe aller Krankengeschichten verzichtet werden. Als Beispiele sollen nur zwei Fälle genauer geschildert werden. Dabei handelt es sich einmal um einen „alten Asthmatiker" mit besonders heftigen und hartnäckigen Anfällen, der gegen die meisten Asthmamittel bereits refraktär war. Der zweite Fall entspricht dem Durchschnitt.

W. St. 48 Jahre alt. Seit eineinhalb Jahren Asthma, erstmalig nach Abheilung eines Ekzems in der Achselhöhle aufgetreten. Seines Asthmas wegen von 7. 6. bis 10. 7. 45 in Krankenhausbehandlung. Dann vom 28. 8. bis 12. 10. 45. Damals besserten sich die Anfälle auf eine „Pyrifer"-Kur. Vom 17. 10. bis 6. 11. 45 wieder wegen Asthmas im Krankenhaus. Auf Kalzium und „Aludrin" Besserung. Jetzt am 5. 8. 46 wieder ins Krankenhaus aufgenommen. Pat. erhält am 6. 8. nach Vorinjektion 60 mg „Novocain" intravenös. Die Wirkung hielt 7 Stunden an. Am 7. 8. 80 mg. Nach einer Stunde Schüttelfrost, danach wieder ein Asthmaanfall, der mit Adrenalin koupiert wird. Darauf 12 Stunden Ruhe. Es wurden nun täglich 10 mg „Novocain" zugegeben. Damit gelang es, den Pat. anfallsfrei zu halten. Am 14. 8. wurde auf die intramuskuläre Injektion umgeschaltet. Unter der „Novocain"-Therapie hatte sich allmählich die chronische Bronchitis, die den Pat. plagte, zurückgebildet. Nunmehr wurde der Versuch einer unspezifischen Desensibilisierung mit „Paspat" unternommen.

A. H. 42 Jahre alt. Seit Kindheit Asthma. Thorax in Inspirationsstellung. Erschwerte Atmung, Zyanose der Lippen. Status asthmaticus. Orthopnoe, Schlaflosigkeit. Pat. erhält am Tage nach seiner Aufnahme die erste intravenöse Injektion von 60 mg „Novocain" und weiterhin täglich 80 mg intravenös. Die Orthopnoe verschwand zügig. Zu einem Anfall ist es im Krankenhaus nicht mehr gekommen. Unter der „Novocain"-Therapie bildete sich auch die chronische Bronchitis vollständig zurück, so daß der Pat. nach 3 Wochen beschwerdefrei entlassen werden konnte.

Bei der Beobachtung aller mit „Novocain" behandelten Fälle haben wir den sicheren Eindruck gewonnen, daß der Zustand der erweiterten Bronchien länger währt als nach Zufuhr von Adrenalin oder von adrenalinhaltigen Präparaten. Der Grund dafür liegt bei pharmakologischer Würdigung unseres Erachtens klar auf der Hand. Künstlich zugeführtes Adrenalin wird im Körper rasch zerstört, das injizierte Adrenalin wirkt wie ein jäher Stoß. Dagegen bewirkt die Anwesenheit des sensibilisierenden „Novocains" eine *physiologische Adrenalindauerwirkung*. Das von der Nebenniere des Pat. abgesonderte, wahrscheinlich fortlaufend sezernierte Adrenalin wird durch Sensibilisierung der sympathischen Nervenenden über die Schwelle der Wirksamkeitsgrenze gehoben. Hinzukommt wahrscheinlich noch eine Wirkung des „Novocains", die im Modellversuch an der Adrenalinoxydase gezeigt werden konnte[2]. „Novocain" hemmt die Adrenalinoxydase in gleichem Ausmaße, wie das die Ephedrinkörper tun. Die Anwesenheit von „Novocain" dürfte somit das körpereigene Adrenalin vor dem raschen Abbau schützen. Damit

ist aber auch anzunehmen, daß die Anwendung des „Novocains" sich nicht auf die Behandlung des Asthma bronchiale beschränkt. Die Anwendung dieses Stoffes wird überall da indiziert sein, wo Sympathikomimetika angewendet werden, oder mit anderen Worten: Das Indikationsverzeichnis der „Novocain"-Therapie deckt sich etwa mit dem Verzeichnis der Erkrankungen, die von Eppinger und Hess zur Vagotonie gerechnet wurden. Wir haben „Novocain" intravenös mit Erfolg bei Heuschnupfen und bei den urtikariellen Erscheinungen der Serumkrankheit angewendet. Eine überraschende Ausweitung erfuhr unser therapeutisches Programm durch die theoretische Weiterverfolgung des Grundgedankens. Wenn die eingangs entwickelte Auffassung richtig ist, daß das Grundmotiv der Asthmatherapie mit „Novocain" eine Sensibilisierung der Sympathikusrezeptoren ist, eine Sensibilisierung für das körpereigene Adrenalin, dann eröffnen sich neue Möglichkeiten überall da, wo eine länger dauernde, möglichst physiologische Sympathikuserregung indiziert ist. Eine aktuelle Indikation dieser Art stellen unseres Erachtens die in der heutigen Zeit so zahlreich auftretenden Durchfälle dar. Sie hängen in vieler Hinsicht mit der gegenwärtigen Unter- und Falschernährung zusammen und haben sich bei uns zu einer wahren crux medicorum entwickelt. Wir wissen, daß der Sympathikus den Darm stillstellt. Wir wissen, daß die Ruhigstellung des Darmes bei der Behandlung aller Diarrhöen eine wesentliche Bedeutung besitzt. Das Opium hat Mängel, dazu ist es nicht in der nötigen Menge greifbar. Der Versuch der Sensibilisierung der sympathischen Endorgane im Darm gegen das körpereigene Adrenalin erschien uns daher auch von großer praktischer Bedeutung. Wir haben in zahlreichen Einzelfällen das „Novocain" bei Diarrhöen erprobt. Dabei handelte es sich um Diarrhöen verschiedenster Genese: Alimentäre Diarrhöen und bazilläre Durchfälle. Zusammenfassend ist zu berichten, daß wir in den meisten Fällen einen durchschlagenden Erfolg erzielen konnten. Dabei verhielten sich natürlich alle Fälle mit anatomischen Veränderungen (tuberkulöse oder andere Geschwüre) refraktär oder gaben nur kurzdauernde Erfolge. Aus unserem Material soll hier nur ein besonders drastischer Fall herausgehoben werden.

H. V. 55 Jahre alt, kam im Juni 1945 aus russischer Kriegsgefangenschaft zurück, hat seit dieser Zeit eigentlich niemals geformten Stuhl gehabt. Verschlimmernd wirkte die vollkommene Zahnlosigkeit, die heute ja auch kaum zu beheben ist. Seit 3 Wochen besondere Verschlimmerung, 6—8 flüssige Entleerungen täglich. Pat. beobachtete den Abgang unverdauter Nahrungsmittel. Kein Blut, kein Schleim, keine Schmerzen. Dabei hält Pat. immer möglichst Diät (Weißbrot). Gewichtsverlust seit einem halben Jahr 20 kg. Pat. wird am 12. 9. 46 wegen Verdacht auf Darmtuberkulose in das Krankenhaus eingewiesen. Nach anfänglichen vergeblichen Versuchen mit Pepsin-Salzsäure, „Pankreon", Caropomon" und Diät wird am 28. 9. mit der intravenösen „Novocain"-Zufuhr begonnen, erst

60, dann 80 mg je Tag. Vom 8. 10. ab nur noch *ein* fester geformter Stuhl je Tag.

Im Rahmen der von dem Präsidenten der Ärztekammer Schleswig-Holstein, Dr. Berthold Rodewald, gegründeten Disputationes therapeuticae wurde uns ebenfalls nachträglich bekannt, daß zwei Ärzte in Schleswig-Holstein, unabhängig von uns, in der Praxis die oben beschriebene Therapie des Asthme bronchiale durchgeführt hatten. Auch sie waren dazu durch die Arbeit von Jenning angeregt worden und hatten sich in der heutigen Zeit der Arzneimittelknappheit („Asthmolysin") seines Vorschlages erinnert.

Herr Dr. Peters (Preetz) berichtete über 20 Fälle auch schwerster Formen von Asthma bronchiale, die alle Lebensalter umfaßten. Er hat durchgehend sehr gute Ergebnisse gehabt.

Ähnliches berichtete Herr Dr. Buumann (Itzehoe).

Beide Herren benützten die Disputatio therapeutica, um sich über den Wirkungsmechanismus der intravenösen „Novocain"-Therapie zu unterrichten. Sie hatten angenommen, daß die Wirkung des „Novocains" über eine Anästhesie der empfindlichen, resp. überempfindlichen sensiblen Nerven in der Bronchialschleimhaut zu erklären sei.

Der Ausgangspunkt für die vorliegende klinische Studie war die im pharmakologischen Experiment gewonnene Erkenntnis, daß eine bestimmte sterische Konfiguration Veränderungen in den Reaktionen des Warmblüterorganismus erzeugt, die auf einen Angriffspunkt der Stoffe im sympathisch-innervierten Organsystem hinweisen. Man kann diese Stoffe am einfachsten als Phenylalkylamine bezeichnen. Es muß späteren Untersuchungen überlassen bleiben, die mikrophysikalischen Ursachen des Einzelvorganges zu ergründen. Wie bereits erwähnt, wurden zwei grundsätzlich immer wiederkehrende Wirkungsabwandlungen durch Vertreter dieser Gruppe beobachtet: Einmal kommt es bei wiederholter Zufuhr solcher Stoffe zur fortschreitenden Wirkungsabschwächung, der „Tachyphylaxie". Kleine Dosen eines solchen Stoffes dagegen verstärken die Wirkung des Adrenalins, die Rezeptoren werden offenbar für Adrenalin sensibilisiert. Wenn ein Stoff, der selbst keine deutlichen Sympathikuswirkungen zeigt, eine Steigerung des Sympathikustonus (oder eine Abschwächung des Vagustonus) erzeugt, dann ist ein Beweis für die Richtigkeit der zugrunde liegenden Überlegung erbracht.

Dadurch wird ein Mangel ausgeglichen, der dem Pharmakologen oft schmerzlich bewußt wird. Die experimentelle Pharmakologie ist eine Wissenschaft an sich. Beim Studium der Einwirkung chemischer Stoffe auf lebende Organismen ist die Wirkung auf den Menschen ein Spezialfall. Ein sehr wichtiger Spezialfall, wenn man an die Toxikologie und an die Therapie denkt! Leider macht sich immer wieder störend bemerkbar, daß es keine eigentlich kranken Versuchstiere gibt. Die Tiere bekommen genau so wenig ein Asthma bronchiale wie einen Heuschnupfen, eine Serumkrankheit, eine Colica mucosa. Es ist daher ein besonders glückliches Ereignis, wenn die Richtigkeit pharmakologisch theoretischer Erkenntnisse einmal in der Therapie überprüft werden kann.

Die „Novocain"-Therapie bei Asthmakranken hat ergeben, daß sich auch beim Menschen offensichtlich eine Sensibilisierung sympathischer

Nervenendorgane durch „Novocain" bewirken läßt. Wir nehmen an, daß es sich um eine Sensibilisierung für das von der Nebenniere des Pat. erzeugte Adrenalin (oder Sympathin) handelt.

Damit ist aber auch eine besonders physiologische Methode der Behandlung des herabgesetzten Sympathikustonus gewonnen. Das Mittel der Zukunft, nach dem wir jetzt suchen werden, sollte überhaupt keine pharmakologische Einwirkung haben, es sollte lediglich die Erfolgsorgane gegen das körpereigene Adrenalin sensibilisieren. Wie Untersuchungen von Holtorf an unserem Krankenhaus ergeben haben, ist die Kreislaufwirkung des langsam intravenös zugeführten „Novocains" fast Null. Die Zahl der Versuche ist noch klein. Das „Novocain" kommt also dem zu erreichenden Ziel schon recht nahe. Eine störende Nebenwirkung der anästhetischen Komponente ist kaum zu befürchten.

Wir sehen in dieser physiologischen Form der Arzneimitteltherapie einen prinzipiellen Fortschritt und zugleich eine Leitlinie für die zukünftige Entwicklung der Arzneitherapie überhaupt. Sie soll überall, wo es nur angängig ist, die darniederliegende Funktion des menschlichen Organismus stützen, indem sie die eigenen Leistungen des Körpers zur Geltung bringt. Wie wenig physiologisch die Substitution ist, hat uns die Therapie mit den Hormonen eindringlich gezeigt. Die von uns vertretene Auffassung eröffnet unseres Erachtens einen neuen Weg für die Forschung, eine Pharmakologie der schwach wirksamen Stoffe.

Wir hoffen, daß die von uns gegebene, neue theoretische Begründung der intravenösen „Novocain"-Therapie die kritische Diskussion in Gang bringen wird. Bei dem gegenwärtig herrschenden Arzneimittelmangel wird die vorangegangene Erörterung vielleicht sinnvolle und zweckmäßige Ausweichversuche in der Arzneimitteltherapie anregen.

Zusammenfassung.

1. Die Grundlagen einer Therapie mit intravenöser Injektion von „Novocain" werden erörtert.

2. Durch geeignete Dosen von „Novocain" werden auch beim Menschen die sympathisch innervierten Gewebselemente sensibilisiert.

3. Durch intravenöse Zufuhr von „Novocain" wurden Kranke mit Asthma bronchiale, Heuschnupfen, Serumkrankheit und Diarrhöen günstig beeinflußt.

4. Die Diskussion der Ergebnisse zeigt, daß die Sensibilisierung eine besonders physiologische Form der Therapie darstellt und geeignet ist, eine „Pharmakologie schwach wirksamer Stoffe" zu fördern.

Literatur.

[1] Meyer, H. H.: Experimentelle Pharmakologie. Berlin u. Wien 1936. — [2] Orzechowski und Mitarbeiter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 226 (1938); **196**, 237, 245, 253, 260, 469, 473 (1940); **197**, 384, 391 (1941); **198**, 27 (1941); **200**, 176, 187 (1943); **202**, 79 (1943). — Schmerz usw. **1942**, H. 2. — Ther. Gegenw. **1942**, H. 10. — [2a] Straub, W.: Der Weg zur rationellen Therapie, S. 46. Leipzig 1933. — [3] Ghall, Bourdin et Guiot: Par. méd. **1942**, 357. — [4] Ghall, Bourdin et Guiot: Par. méd. **1943**, 92. — [5] Vanhaecke, Breton et Guidoux: Presse méd. **1943**, 339. — [6] Pintos: Rev. clin. españ. **1944**, XII. Ref. Med. Klin. **1944**, 593. — [7] Breton, Vanhaecke et Guidoux: Écho med. N. **1943**, 49. Vgl. auch die Dissertationen von Y. J. Bertrand u. P. Rigodon, beide Paris 1943. — [8] Hoffmann, F. A.: In Nothnagels Handbuch, 2. Aufl. 1912. — [9] Willis: Zit. nach Morawitz. In Kraus-Brugsch, Spez. Path. u. Ther., Bd. III/2, S. 1. — [10] Laennec: Traité de l'auscultation, Paris 1826. — [11] Eppinger u. Hess: Die Vagotonie. Berlin 1910. — [12] Wintrich: In Virchows Handbuch der peziellen Pathologie, Bd. V, S. 194, 1854. — [13] Biermer: In V. Volkmanns Innere Medizin 1870. — [14] Weber: 45. Naturf.verslg, Leipzig 1872, S. 159.

Aus den Laboratoires de chimie inorganique et organique
de l'université in Genf.

Die Konstitution des Glykogens*.

Von

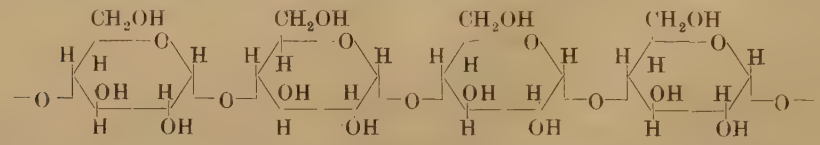
KURT H. MEYER, P. BERNFELD und P. GÜRTLER.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Unter der Bezeichnung „Glykogen" seien im folgenden diejenigen hochpolymeren, aus Glukoseresten zusammengesetzten Polysaccharide verstanden, die sich im Zellplasma vieler Tiere und mancher Pflanzen (z. B. Hefe) verteilt oder auch als amorphe Schollen vorfinden und die mit Jod eine rotbraune oder rote Farbreaktion zeigen. Dagegen seien im Gegensatz zu mehreren amerikanischen Autoren nicht diejenigen Kohlehydrate inbegriffen, die ebenfalls rote Jodreaktion geben, die aber den Inhalt von Stärkekörnern bilden, z. B. der Körner der „Waxy-Mais" oder des Klebreises, und die in den Körnern zu kristallinen Sphäriten zusammengefügt sind.

Wir wissen heute, daß das Glykogen hochpolymer ist und kompakte Moleküle bildet. Dies geht insbesondere aus dem viskosimetrischen Verhalten hervor, wie STAUDINGER[1] gezeigt hat. Das Glykogen kann also, trotzdem es bei der enzymatischen Hydrolyse viel Maltose liefert, nicht aus langen Ketten von in α 1,4 glukosidischer Bindung (Maltosebindung) verbundenen Glukoseresten bestehen, wie die Amylose, sondern muß eine verzweigte Struktur haben.



Amylose.

Dies wird auch durch die chemischen Befunde erhärtet: Glykogen hat einen hohen Prozentsatz endständiger Glukosereste, die bei der hydrolytischen Spaltung des methylierten Glykogens 2.3.4.6-Trimethylglukose liefern (HAWORTH[2]). Ferner wird Glykogen von β-Amylase

* Herrn Prof. HEUBNER zum 70. Geburtstag gewidmet.

[1] STAUDINGER, H.: Naturw. **25**, 673 (1937). — STAUDINGER, H. u. E. HUSEMANN: Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 1451 (1937). — Ann. Chem. **530**, 1 (1937). —
[2] HAWORTH, W. N., E. L. HIRST u. F. A. ISHERWOOD: J. chem. Soc., Lond. **1937**, 577.

nicht vollständig zu Maltose abgebaut; es hinterbleiben 50—60% einer hochpolymeren Substanz, „Grenzdextrin". Nun baut β-Amylase die Amyloseketten nach Ohlsson[3] vom nicht glukosidischen Ende an ab; Phosphorsäurereste bilden ein unübersteigliches Hindernis (Hanes[4]), ebenso andere Bindungen als α 1,4 glukosidische. Da Glykogen praktisch keinen chemisch gebundenen Phosphor enthält[5], kommen als

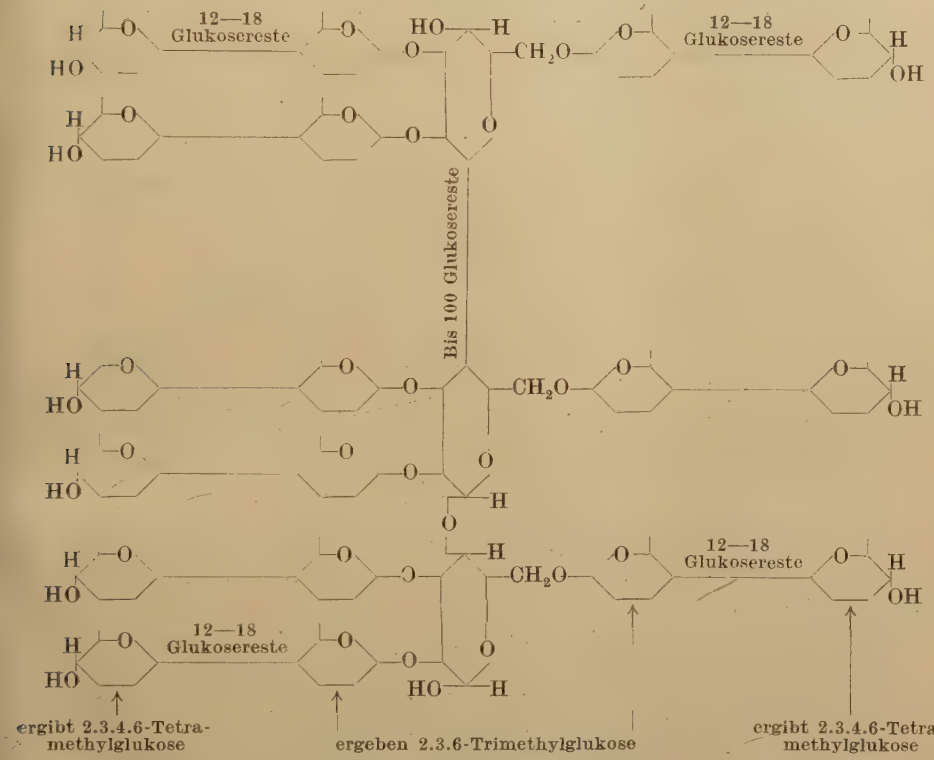


Abb. 1. Formel des Glykogens nach Staudinger.

Hindernis nur Zweigstellen in Betracht, in denen andere Bindungen als α 1—4 Bindungen vorliegen.

Was nun die Konstitution des Glykogens im einzelnen und die Anordnung der Zweige betrifft, so stehen einander 3 Strukturvorschläge gegenüber.

1. Nach einer von Staudinger aufgestellten, allerdings nicht als endgültig bezeichneten Formel besteht Glykogen aus einer Hauptkette,

[3] Ohlsson, E.: Z. physiol. Chem. **189**, 17 (1930). — [4] Hanes, C. S.: New Phytologist **36**, 538 (1937). — [5] Meyer, K. H. u. R. Jeanloz: Helvet. chim. Acta **26**, 1784 (1943).

deren Glukosereste an allen Hydroxylgruppen Zweige tragen, d. h. alle Hydroxylgruppen dieser zentralen Kette sind glukosidisch verschlossen (s. Abb. 1).

2. Nach HAWORTH[6] besitzt Glykogen eine „laminated structure:" "Its structure is represented by a chain of 12 glucopyranose members united by lateral linkages to form a laminated structure." Die seitlichen Bindungen sind sehr wahrscheinlich α 1,6 Bindungen.

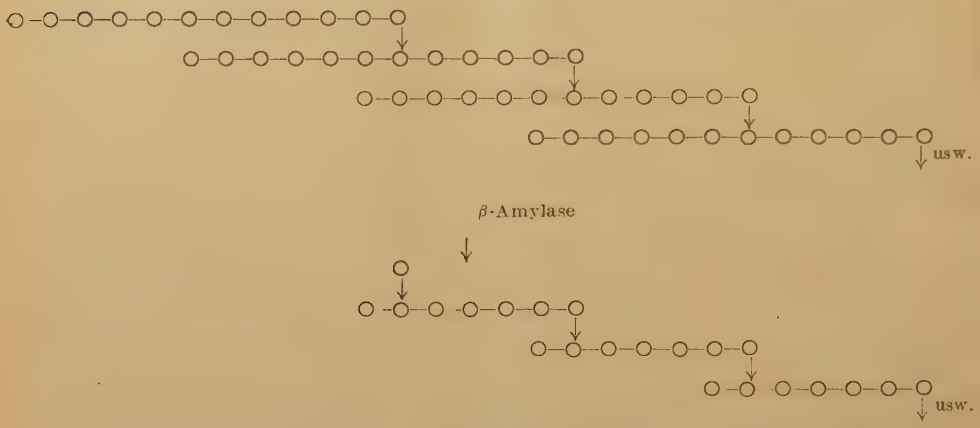


Abb. 2. Formel des Glykogens und des Grenzdextrins nach HAWORTH. Die Ringe bedeuten Glukosereste, die Striche bedeuten α 1,4, die Pfeile α 1,6 Bindung.

3. Nach KURT H. MEYER[7] hat es eine verästelte Struktur nach Abb. 3. Das Grenzdextrin wird durch das Schema der Abb. 4 wiedergegeben.

Zwischen den 3 Strukturvorschlägen läßt sich eine endgültige Entscheidung fällen, wenn man die Formeln des Grenzdextrins, das aus Glykogen durch Abbau mit β-Amylase entsteht, in Betracht zieht und sie an Hand seiner Eigenschaften prüft.

ad 1. Von einem G ykogen nach STAUDINGER sollte nach β-amylatischem Abbau der Seitenketten nur die Zentralkette mit seitlichen „Stummeln" übrig bleiben; da auf jeden Glukoserest der Zentralkette 3 seitliche Ketten mit zusammen etwa 3mal 15 = 40—50 Glukoseresten entfallen, sollten mindestens 90% durch β-Amylase abgebaut werden. Der Abbau beträgt jedoch nur 47%. STAUDINGERs Strukturvorschlag scheidet also aus.

ad 2. Das nach HAWORTH formulierte Glykogen sollte eine kettenförmige Verbindung geben, in der außer α 1,4 auch α 1,6 Bindungen vorkommen (vgl. Abb. 2).

---

[6] HAWORTH, W. N.: Proc. roy. Soc. Lond. A **186**, 1 (1946). — [7] MEYER, K. H.: Naturw. **29**, 287 (1941).

Die Lösungen solcher fadenförmig gebauten Polysaccharide haben verhältnismäßig hohe Viskositäten, was bei dem Grenzdextrin nicht der Fall ist. Ihre Azetate geben beim Eindampfen ihrer Tetrachloräthanlösung feste, leicht dehnbare Filme. Dies gilt nicht nur für die regelmäßig gebauten Substanzen Triacetylamylose und Triacetylcellulose, sondern auch für Triacetyllichenin, das aus langen Ketten besteht[8] in denen außer 75% α 1,4 auch 25% α 1,3 Bindungen

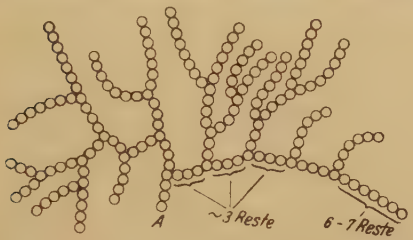


Abb. 3. Schema der Anordnung der Glukosereste im Glykogen. ○ Glukoserest, *A* aldehydisches Ende.

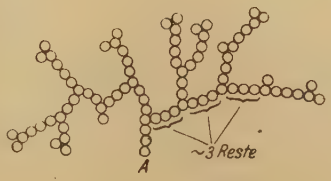


Abb. 4. Schema der Anordnung der Glukosereste im Grenzdextrin.

vorkommen und das also einen ähnlichen Bau hat wie das nach Haworth formulierte Grenzdextrin.

Wir finden nun, daß azetyliertes Grenzdextrin aus Glykogen keine filmbildenden Eigenschaften hat, ebensowenig wie Azetylglykogen selbst.

3 g Glykogen aus Rindsleber (Hoffmann-La Roche, Basel) wurden zur Entfernung von etwa 2% anhaftendem Eiweiß in 60 ccm Wasser gelöst und mit 20 ccm $CHCl_3$ und 2 ccm Amylalkohol während 24 Stunden geschüttelt. Die Emulsion wurde 1 Stunde bei 3000 T. zentrifugiert. Die überstehende opalisierende Lösung wurde abgehebert und noch zweimal mit $CHCl_3$ und Amylalkohol behandelt. Die Glykogenlösung wurde in der früher beschriebende Weise mit β-Amylase zumGrenzdextrin abgebaut[9]. Das Grenzdextrin wurde mit Methanol ausgefällt, das anhaftende Wasser durch Waschen mit Methanol, dieser mit Äther und der Äther mit trockenem Pyridin verdrängt; dann wurde mit Pyridin-Essigsäureanhydrid auf 100% während 24 Stunden erwärmt. Nach dem Erkalten wurde das Reaktionsgemisch zentrifugiert, wobei ein Bodensatz (Fraktion 1) anfiel. Die braungefärbte überstehende Lösung wurde abdekantiert und unter Kühlung in Alkohol gegossen, wobei ein feinflockiger Niederschlag (Fraktion 2) entstand. Aus 2,1 eiweißfreiem Glykogen wurden erhalten:

Fraktion 1: 0,55 g beige gefärbtes feines Pulver
Fraktion 2: 1,1 g „ „ „ „

Beide Fraktionen sind löslich in Chloroform und Tetrachloräthan sowie in Benzylalkohol. Durch Abdampfen ihrer Lösungen erhält man eine bröcklige Masse und keinen Film. Das Grenzdextrin hat also ebenso wie das Glykogen einen kompakten, nicht langgestreckten

[8] Meyer, Kurt H. u. P. Gürtler: Helvet. chim. Acta **30**, 751 (1947). — [9] Meyer, K. H. u. M. Fuld: Helvet. chim. Acta **24**, 375 (1941).

Bau. Hiermit steht nun unser Strukturvorschlag Abb. 3 im Einklang.

Wir sind daher der Meinung, daß unser Vorschlag die wirkliche Konstitution des Glykogens schematisch wiedergibt; Glykogen ist allerdings in Wirklichkeit ein Gemenge von Molekülen sehr verschiedenen Molekulargewichts (von 1 bis mehreren Millionen), bei denen auch Schwankungen im Verzweigungsgrad vorkommen dürften.

Die Synthese des Glykogens aus Glukose-1-phosphat, läßt sich verstehen, wenn man annimmt, daß außer der bereits bekannten α 1,4 Phosphorylase noch eine α 1,6 Phosphorylase mitwirkt, die Glukose aus Glukose-1-phosphat an $-CH_2OH$-Gruppen des wachsenden Glykogenmoleküls anlagert. Wenn hierbei durchschnittlich 5—6mal so viel α 1,4 wie α 1,6 Bindungen geschlossen werden, so entstehen Moleküle nach unserem Schema.

Aus der I. Medizinischen Klinik und dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über die Hämiglobinbildung durch p-Nitro-o-toluidin*.

Von

Melchior Reiter.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 15. Oktober 1947.)

Bei den reinen aromatischen Nitrokörpern führt eine Methylsubstitution zu einer Herabsetzung der Fähigkeit, Hämiglobin [Methämoglobin = Hb (3)] zu bilden[4]. Jung[1] hat bei seiner Untersuchung des m-Nitroanilins wahrscheinlich machen können, daß nur die Aminogruppe das die Hb (3)-Bildung bewirkende Radikal liefert, Nitroanilin also als aromatisches Amin anzusehen ist.

Es besteht die Frage, ob die aromatischen Amine durch Einführung einer Methylgruppe in ihrem Hb (3)-Bildungsvermögen ähnlich beeinflußt werden wie die bisher untersuchten Nitrokörper.

Eine Möglichkeit zur Beantwortung dieser Fragestellung bietet die Untersuchung des methylierten m-Nitroanilins, des p-Nitro-o-toluidins (oder 1-Methyl-2-amino-4-nitrobenzols), das wegen seiner erheblichen Süßkraft heute toxikologische Bedeutung erlangt.

I. Versuche an Meerschweinchen.

Wegen Mangel an Katzen wurde zunächst die Giftwirkung an Meerschweinchen untersucht.

Es wurde den Tieren der Stoff in 2%iger öliger Lösung (Rapsöl) intraperitoneal injiziert. Vorher und nachher wurden den Tieren durch Herzpunktion 0,2 ccm Blut entnommen und darin der Hämo- und Hämiglobingehalt nach der kolorimetrischen Methode von Havemann, Jung und von Issekutz[2] bestimmt. Es wurden akute Versuche mit einmaliger Dosierung und später auch chronische Versuche mit täglichen Injektionen der gleichen Menge vorgenommen. Außer der Hb (3)-Bestimmung wurden Blutausstriche angefertigt, die zur Untersuchung auf Heinzsche Innenkörperchen mit Brillantkresylblau vital gefärbt wurden. Von einigen Tieren wurden die inneren Organe entnommen und histologisch untersucht.

a) Akute Versuche.

Bei einer Dosierung von 0,6—0,7 g je Kilogramm trat nach 4—10 längstens nach 48 Stunden der Tod ein. Ein Meerschweinchen starb

* Herrn Prof. Wolfgang Heubner zum 70. Geburtstag.

einen Tag nach einer Dosis von 0,3 g je Kilogramm. Die Tiere begannen bald nach der Injektion zu taumeln, bekamen Streckkrämpfe und Urinabgang. Einige Tiere kamen bald nach der Injektion in Seitenlage. Die Hb(3)-Bildung war sehr gering, sie überstieg im Durchschnitt nicht 1 g-%. Bei 0,7 g je Kilogramm wurde einmal 2,3 g-% Hb(3) gefunden, was 14,5% des Gesamthämoglobins entsprach. Veränderungen an den roten Blutkörperchen wurden in keinem Fall gefunden. Das entspricht den Befunden von KUNZ[5], der bei seinen Versuchen mit m-Dinitrobenzol an Meerschweinchen auch keine HEINZ-Körperchenbildung beobachten konnte.

Auch bei subletaler Dosis fiel die Wirkung auf das Nervensystem auf: Taumeln, Streckkrämpfe, Speichel- und Urinabgang.

Bei der Obduktion der toten Tiere fand sich nicht resorbiertes Öl im Bauchraum, die Lebern waren makroskopisch vergrößert. Die histologische Untersuchung eines Tieres, das 0,8 g je Kilogramm erhalten hatte, zeigte scholligen Zerfall des Myokards, trübe Schwellung der Harnkanälchen und in der Leber feintropfige Verfettung der Läppchenzentren.

(Die Beurteilung der histologischen Präparate übernahm freundlicherweise Herr Dr. STAMPFL vom Pathologischen Institut der Universität München.)

b) Chronische Versuche.

Zwei Meerschweinchen bekamen täglich 0,1 g je Kilogramm injiziert. Sie starben nach 13 und 15 Tagen. Ein Meerschweinchen erhielt täglich 0,3 g je Kilogramm es starb nach 14 Tagen. Ein Meerschweinchen mit täglich 0,5 g starb nach 3 Tagen.

Bei allen Tieren wurde ein starker Haarausfall beobachtet. Sie nahmen an Gewicht ab, desgleichen sank der Hämoglobinwert. Bei der Obduktion fanden sich wie bei den akuten Versuchen fettige Detritusmassen im Bauchraum, vergrößerte Lebern und Nieren.

Die histologische Untersuchung ergab am Herzmuskel feintropfige Verfettung des Sarkoplasmas, in der Niere ausgeprägte trübe Schwellung der Kanälchen und Hyperämie der Glomerulusschlingen. In der Leber fand sich feinvakuoläre Auflockerung der Parenchymzellen mit feintropfiger Verfettung der Läppchenzentren.

II. Versuche an Katzen.

Verwandt wurde wieder eine 2%ige ölige Lösung, die gleichfalls intraperitoneal injiziert wurde. Die zur Untersuchung erforderliche Blutmenge wurde aus einer Ohrvene entnommen. Die Bestimmung von Hb und Hb(3) erfolgte nach der angegebenen Methode. Wie bei den Meerschweinchen wurden vitalgefärbte Blutausstriche gewonnen. Die Organe zweier Katzen wurden histologisch untersucht.

Da die Katzen im Hinblick auf die Blutwirkung durch Nitrokörper wesentlich empfindlicher als Meerschweinchen sind, waren von vornherein andere Befunde zu erwarten. Die Versuchsergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Es wurde zunächst mit der bei Meerschweinchen als subletal bekannten Dosis von 500 mg je Kilogramm begonnen. Es bildete sich sehr schnell Hb (3). Nach $2^3/_4$ Stunden wurde das Maximum Hb (3) mit 10,0 g-% gemessen. Das Tier begann bald nach der Injektion zu taumeln, es trat starker Speichelfluß auf, schließlich legte es sich völlig schlaff auf die Seite. Es starb nach 9 Stunden, nachdem der Hb (3)-Gipfel schon überschritten war. Bei Eröffnung der Bauchhöhle fand sich noch nicht resorbiertes Öl. Die nächste Katze mit 100 mg je Kilogramm bot die gleichen äußeren Erscheinungen. Das Maximum der Hb (3)-Bildung (9,2 g-%) war schon nach 1 Stunde erreicht. Der Tod erfolgte nach 3 Stunden.

Die weiteren Versuche wurden bei einer Dosierung von 1—30 mg je Kilogramm durchgeführt. Die Katzen überstanden die teilweise massive Hb (3)-Bildung relativ gut, so daß sie nach einigen Tagen Pause wieder zu neuen Versuchen verwandt werden konnten. Schon nach 1 mg je Kilogramm wurde eine deutliche Hb (3)-Bildung beobachtet. Als Beispiel für den Ablauf der Hb (3)-Bildung sind 2 Versuche kurvenmäßig dargestellt. Das Maximum der Hb(3)-Bildung war im Durchschnitt nach $2^1/_2$ Stunden erreicht. Das Dosiswirkungsverhältnis val Hb (3) : mol p-Nitro-o-toluidin beträgt im Durchschnitt 3,7. Bis zur Dosis $0{,}66 \cdot 10^{-4}$ mol je Kilogramm verläuft die Dosiswirkungskurve etwa geradlinig, danach besteht eine deutliche Plateaubildung.

Tabelle 1. *Hämiglobinbildung durch p-Nitro-o-toluidin (Mol.-Gew. 152).*

Bezeichnung der Katze	Körpergewicht in kg	Dosis je kg Tier in mg	Dosis je kg Tier in mol · 10^{-4}	Mittlere Hb-Werte in g-%	Maximale Hb(3)-Bildung in g-% nach Abzug des Ausgangswertes	Hb(3) in val · 10^{-4} je kg Tier (1 kg Tier = 75 ccm Blut)	Verhältnis val Hb(3) : mol p-Nitro-o-toluidin	Maximum der Vergiftung nach Stunden	Heinz-Körperchen
IV_1	2,1	1	0,066	10,6	1,3	0,61	9,2	$2^1/_2$	(+)
V_2	2,5	3	0,20	9,9	1,9	0,89	4,5	$2^1/_4$	(+)
V_1	2,6	5	0,33	11,1	2,7	1,27	3,8	$2^3/_4$	
IV_2	2,1	7	0,46	8,5	2,5	1,17	2,5	$4^1/_2$	+
III_2	1,5	9	0,59	10,0	3,6	1,69	2 9	2	++
III_1	1,6	10	0,66	10,6	5,9	2,76	4,2	$2^1/_2$	+
IV_3	2,25	15	0,99	9,5	5,9	2,76	2,8	3	+
V_3	2,3	20	1,32	10,0	5,5	2,58	2,0	3	+++
IV_4	2,2	30	1,97	9,0	6,9	3,23	1,6	$1^3/_4$	+++
						Durchschnitt 3,7			
II	2,5	100	6,57	12,1	9,2	4,3		1	nicht
I	3,0	500	32,0	12,2	10,0	4,7		$2^3/_4$	unter-sucht

Bei der Bewertung des abfallenden Wirkungsgrades bei höherer Dosierung muß daran gedacht werden, daß die Ursache dafür möglicherweise in einer Gewöhnung der Katzen liegt, die bei der Dosis von 15—30 mg zum dritten und vierten Mal verwandt wurden.

In allen Fällen trat deutliche HEINZ-Körperchenbildung auf. Die Zahl der befallenen Blutkörperchen nahm bei stärkerer Dosis zu und betrug bis zu 100%.

Streckkrämpfe wie bei den Meerschweinchen konnten nicht beobachtet werden. Alle Katzen verloren im Verlauf der 3—4 Versuche, zu denen sie verwandt wurden, an Gewicht und sie wurden anämisch. Einige Tage nach dem letzten Versuch hörten sie alle zu fressen auf und starben 5—10 Tage nach der letzten Injektion; sie hatten im ganzen 30—50 mg je Kilogramm erhalten.

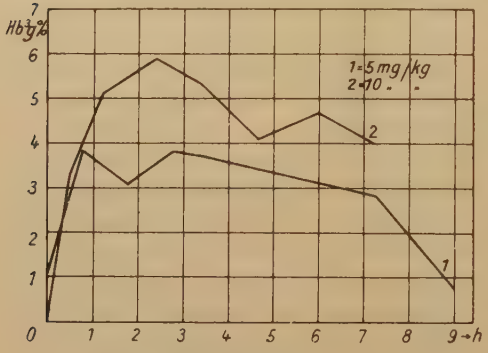


Abb. 1. Hämiglobinbildung durch p-Nitro-o-toluidin bei Katzen.

Die Obduktion lieferte ähnliche Bilder wie bei den Meerschweinchen. In den Bauchhöhlen fanden sich Reste nichtresorbierten Öls. Die Lebern schienen vergrößert. Die histologische Untersuchung der Katze I, die 500 mg je Kilogramm erhalten hatte, zeigte in der Leber vermehrte Bilirubinablagerung, trübe Schwellung und teilweise feinvakuoläre Auflockerung des Parenchyms, ein Befund, der auf einen vermehrten Blutabbau hindeutet. Die Katze IV, die im ganzen zu 4 Versuchen verwandt wurde, zeigte histologisch eine hochgradige diffuse Verfettung der Leber sowie eine feintropfige Verfettung des Nierenepithels.

III. Besprechung.

p-Nitro-o-toluidin ist ein stärkerer Hb (3)-Bildner als m-Nitroanilin. Eine wirkungsmäßige Einordnung in einige aromatische Nitro- und Aminokörper gibt die Aufstellung in Tabelle 2.

Nach den Untersuchungen von JUNG[1] reagiert m-Nitroanilin als Hb (3)-Bildner wie Anilin, d. h., es kommt nicht die Nitro-, sondern die Aminogruppe zur Wirkung. Bei den reinen aromatischen Nitrokörpern verursachte die Einführung einer Methylgruppe ausnahmslos eine Herabsetzung der Hb (3)-Bildung[4].

Bei der Methylsubstitution des m-Nitroanilins sehen wir im Gegensatz dazu eine Erhöhung der Wirksamkeit in bezug auf die Hb (3)-

Bildung. Die Wirkung der Methylsubstitution bei m-Nitroanilin im Gegensatz zu der Wirkung der Methylsubstitution bei Nitrobenzol ist eine Bestätigung der Ansicht von JUNG, daß im m-Nitroanilin nur die Aminogruppe das die Hb (3)-Bildung bewirkende Radikal bildet.

Die degenerative Wirkung auf das Parenchym kommt bei den als chronisch anzusehenden Versuchen, wo auf 3—4 Gaben verteilt, im ganzen 30—50 mg verabfolgt wurden, klar zum Ausdruck. Die Giftigkeit des Stoffes beschränkt sich also nicht allein auf die Hb (3)-Bildung.

Tabelle 2.

Stoff	Dosiswirkuugsverhältnis val Hb(3): mol Nitro- beziehungsweise Aminokörper
p-Nitro-o-toluidin . .	3,7
m-Nitroanilin[1] . . .	3
Anilin[3]	2,5
Nitrobenzol[4]	0,86
o-Nitro-toluol[4]. . . .	0,05
m-Nitro-toluol[4] . . .	0,04
p-Nitro-toluol[4] . . .	sehr wenig
m-Dinitrobenzol[4] . .	7,8
2,4-Dinitrotoluol[4] . .	1,4
2,6-Dinitrotoluol[4] . .	0,55

Die Unterschiede der Wirksamkeit bei Katzen und Meerschweinchen entsprechen etwa dem Unterschied der Hb (3)-Rückbildungsgeschwindigkeit der Tierart[6]. Die bei den Meerschweinchen beobachteten Nervenerscheinungen traten bei den Katzen nicht auf.

Zusammenfassung.

p-Nitro-o-toluidin ist ein stärkerer Hämiglobinbildner als m-Nitroanilin. Die Methylsubstitution des Nitroanilins führt im Gegensatz zur Methylsubstitution der reinen aromatischen Nitrokörper zu einer vermehrten Hämiglobinbildung, was ein weiterer Hinweis dafür ist, daß m-Nitroanilin nur durch seine Aminogruppe Hämiglobin bildet.

Literatur.

[1] JUNG, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **204**, 133 (1947). — [2] HAVEMANN, JUNG u. v. ISSEKUTZ: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — [3] HERKEN, H.: Zit. bei JUNG, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **204**, 133 (1947). — [4] BREDOW, M. v. u. F. JUNG: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 335 (1942). — [5] KUNZ: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 1 (1942). — [6] HEUBNER, W., M. KIESE, M. STUHLMANN u. W. SCHWARZKOPF-JUNG: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **204**, 313 (1947).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Firma
Dr. Willmar Schwabe, Leipzig.

Zum Wirkungsmechanismus einiger bei Leber- und Gallenleiden angewandter pflanzlicher Mittel (Berberis, Chelidonium, Chelone)*.

Von

Prof. Dr. med. Eduard Rentz.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Die *Berberitze* oder der Sauerdorn (Berberis vulgaris) wird von Kneipp bei Leberentzündung, katarrhalischer Gelbsucht und Gallensteinleiden verordnet. In der homöopathischen Literatur werden u.a. Gallensteine als Indikation für Beberis genannt und in der Volksmedizin gebraucht man die Pflanze vielfach bei Gelbsucht[1]. Auf der Suche nach einem wirksamen pflanzlichen Cholagogum prüften wir deshalb experimentell u. a. auch die Berberitze.

Methodik. Als Versuchstiere dienten narkotisierte Meerschweinchen und Ratten (1—1,2 g Urethan pro kg subkutan). Man legte wie üblich eine Gallengangsfistel an und notierte alle 30 Min. die durch eine Glaskapillare in den Meßzylinder ausfließende Gallenmenge. Die zu prüfende Substanz verabreichte man den Tieren durch eine in den Dünndarm eingeführte Schlundsonde. Um die Atmung nicht zu behindern, wurde in die Trachea eine Kanüle eingebunden. Wir benutzen die vom Alkohol befreiten und mit Wasser auf das halbe ursprüngliche Volumen ergänzten Urtinkturen der zu untersuchenden Stoffe, die nach einer $1^1/_2$stündigen Vorperiode in Mengen von 0,5—2 ccm beigebracht wurden.

Versuchsbeispiel 1.

Meerschweinchen von 320 g Gewicht. Es wird die fortlaufend alle 30 Min. notierte Gallenmenge angegeben.

Vorperiode:	2,0 ccm
	1,95 „
	1,95 „
1 ccm Berberis intraduodenal:	2,4 ccm
	2,1 „
	2,1 „
	2,0 „

* Prof. W. Heubner zum 70. Geburtstag.

[1] Kosch: Handbuch der Deutschen Arzneipflanzen. Berlin 1939. — Müller: Charakteristik. Leipzig 1935.

Wie der Versuch 1 zeigt (die anderen fielen ganz ähnlich aus), führt der Berberisauszug am Meerschweinchen zu einer mäßigen, aber doch stets deutlich feststellbaren Vermehrung des Gallenflusses im Durchschnitt um etwa 15—25% (wenn man die letzte Stunde der Vorperiode mit der ersten nach Applikation des Mittels vergleicht).

Bei der *Ratte* war unter dem Einfluß von Berberis niemals ein Erfolg zu sehen, während das zur Kontrolle eingeführte *Decholin* sich stets als wirksam erwies und in der angewandten Menge die Galle um etwa 30 bis 50% vermehrte (siehe Versuchsbeispiel 2).

Versuchsbeispiel 2.

Ratte von 210 g Gewicht.

Vorperiode:	0,2 ccm
	0,2 „
	0,2 „
0,5 ccm Berberis intraduodenal:	0,2 ccm
	0,15 „
	0,15 „
0,1 ccm Decholin 20% intraduodenal:	0,25 ccm
	0,25 „
	0,2 „

Als vorzügliches und bevorzugtes Leber- und Gallenmittel, das die „verstopfte Leber öffnet" und die Gelbsucht vertreibt, wird fernerhin das *Schöllkraut* (Chelidonium) seit jeher angewandt[1]. Es soll nach neueren Untersuchungen sogar geeignet sein, fremdländische Drogen, wie Curcuma, Podophyllum usw. vollwertig zu ersetzen[2,3]. Fritz sowie Schaffler[4] sollen damit im Tierversuch eine Steigerung der Gallensekretion beobachtet haben. Demgegenüber fand Urban[5] am Kaninchen mit Choledochusfistel die verschiedensten Chelidonium-Frischkrautpräparate sowohl nach intravenöser als auch intraduodenaler Verabreichung als Cholagoga unwirksam.

Wir benutzten für unsere Versuche zunächst wiederum Urtinkturen von Chelidonium, die vom Alkohol befreit und mit Wasser auf das halbe ursprüngliche Volumen ergänzt waren. 0,5, 1 und 2 ccm davon erwiesen sich am Meerschweinchen und an der Ratte als unwirksam, während Decholin oder auch Berberis, hinterher gegeben, die Gallenmenge vermehrten. Erst als wir für unsere Versuche ein *Chelidoniumkonzentrat* benutzten, von dem 1 ccm etwa 10 ccm der Urtinktur entsprach, ließ sich am Meerschweinchen eine gewisse (zwischen 10 und 20% liegende) Vermehrung der Gallenmenge feststellen (siehe Versuchsbeispiel 3).

---

[2] Daniel u. Schmaltz: Hippokrates (D.) **1937**, Nr 20, 489; **1938**, Nr 9, 209. — [3] Seel, Stieda u. Peplau: Hippokrates (D.) **1939**, Nr 50, 1281. — [4] Zit. nach v. Nádosy. Allg. homöop. Ztg **184**, 397 (1936). — [5] Urban: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 43 (1944).

Versuchsbeispiel 3.

Meerschweinchen von 420 g Gewicht.

Vorperiode:	2,3 ccm
	2,3 „
	2,1 „
0,5 ccm Chelidonium-Konzentrat intraduodenal:	2,5 ccm
	2,4 „
	2,4 „

An der Ratte blieb auch das Konzentrat unwirksam.

Zum Vergleich untersuchten wir noch ein Mittel, welches die Leber- und Verdauungsfunktion fördern und besonders in der Rekonvaleszenz nach Leberleiden Anwendung finden soll, nämlich die Urtinktur von *Chelone glabra*[6], über deren Wirkstoffe nicht viel bekannt zu sein scheint.

Chelone ∅ hatte weder am Meerschweinchen noch an der Ratte eine Wirkung. Nur das Konzentrat bewirkte am Meerschweinchen eine unsichere Zunahme des Gallenflusses um etwa 5 bis höchstens 10%, so daß man das Mittel in dieser Hinsicht als praktisch unwirksam ansehen kann.

Die Tatsache, daß Berberis und (in hohen Dosen) auch Chelidonium am Meerschweinchen cholagog wirken, an der Ratte hingegen nicht, läßt wohl den Schluß zu, daß es sich bei beiden Drogen weniger um eine choleretische (echte Mehrsekretion), als vielmehr um eine *cholekinetische* Wirkung (Beeinflussung der Gallenblase und der Gallenwege) handelt, denn die Ratte besitzt bekanntlich keine Gallenblase und außerdem ist in ihren Gallenwegen, im Gegensatz zu denen des Kaninchens (nach FROMHERZ[7]) nirgends glatte Muskulatur zu finden.

Die wirksame Substanz der Berberitze ist in erster Linie das *Berberin*. Nach dem Homöopathischen Arzneibuch „Schwabe" soll die Urtinktur 0,35% davon (einschließlich Oxyacanthin und Berbamin) enthalten. Nun gehört Beberin zu jenen Alkaloiden, die in verschiedenen Pflanzenfamilien, u. a. auch im Chelidonium vorkommen, und zwar ist es, wie GADAMER[8] sicher nachgewiesen hat, mit dem Schöllkrautfarbstoff Chelidoxanthin identisch. Nach den Untersuchungen von NEUGEBAUER und BRUNNER[9] schwankt der Gesamtalkaloidgehalt (ohne Berberin) der Chelidonium-Urtinktur zwischen 0,036 und 0,115% und der Berberingehalt derselben zwischen 0,003 und 0,01%.

Da die cholagoge Wirkungsstärke von Berberis im Vergleich zu jener von Chelidonium bedeutend größer ist und auch der Prozentsatz des

[6] Vgl. VANNIER: L'homoeopathie française, p. 217, 1934. — [7] FROMHERZ: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 571 (1942). — [8] GADAMER: Dtsch. Apothekerztg **1924**, Nr 101, 1569. — [9] NEUGEBAUER u. BRUNNER: Pharmaz. Z.halle Dtschld. **1937**, 78. u. Dtsch. Apothekerztg **1937**, 52, 64.

in beiden Urtinkturen enthaltenen Berberins in gleicher Richtung liegende starke Unterschiede aufweist, so liegt es nahe, vor allem in diesem Alkaloid die gallenwirksame Substanz zu vermuten.

Berberinhydrochlorid in 0,3%iger Lösung, Meerschweinchen intraduodenal beigebracht, führte allerdings noch zu keiner sicheren Vermehrung des Gallenflusses, wohl aber die 2%ige Lösung (siehe Versuchsbeispiel 4).

Versuchsbeispiel 4.

Meerschweinchen von 375 g Gewicht.

Vorperiode:	1,9 ccm
	1,7 „
1 ccm Berberinhydrochlorid 2% intraduodenal:	2,1 ccm
	2,1 „
	1,9 „

Da für Berberis und Chelidonium bezüglich ihrer cholagogen Wirkung eine Beeinflussung der glatten Muskulatur der Gallenwege anzunehmen war, ist auch vorauszusetzen, daß diese Mittel und ebenso das grundsätzlich ähnlich wirkende Berberin an anderen glattmuskuligen Organen gleichfalls eine Wirkung zu entfalten vermögen, was älteren Angaben zufolge[10] für das Berberin auch der Fall sein soll. Nach MARFORI[11] vermindert Berberin auch die Vagusreizbarkeit und hebt sie in großen Dosen ganz auf, und nach CHANG-SHAW[12] werden Acetylcholin und Pilokarpin am Herzen durch kleine Berberindosen potenziert, durch mittlere und große antagonistisch beeinflußt. Auch dem Oxyacanthin, dem Nebenalkaloid des Berberins in der Berberitze, kommt nach RAYMOND-HAMET[13] eine Wirkung auf die glatte Muskulatur der Gefäße zu.

Ferner ist für Chelidonin, das Hauptalkaloid des Schöllkrautes, nachgewiesen worden, daß es zu einer Tonusabnahme der glatten Muskulatur des Magen-Darm-Kanals führt und die Wirkung des Pilokarpins usw. aufhebt[14]. Am Rattendünndarm haben schließlich SEEL, STIEDA und PEPLAU[3] sowohl durch reines Chelidonin als auch durch Chelidonium-Trockenextrakt eine Tonussteigerung bei geringer Vermehrung der Einzelkontraktionen gesehen.

Wir prüften die vom Alkohol befreiten und mit Wasser auf das ursprüngliche Volumen ergänzten Urtinkturen von Berberis und Chelidonium (daneben auch Chelone) und ebenso das Berberin an isolierten und in Tyrodelösung suspendierten Dünndarmstücken (nach MAGNUS) von Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen in Kombination mit Acetylcholin und kamen zu den folgenden Ergebnissen:

An gut reagierenden Darmstücken (Kaninchen) bewirkte *Berberis* bereits in der Konzentration 1: 50000 eine Verbesserung der Amplituden (Abb. 1). Konzentriertere Lösungen (1: 5000—1: 100; Abb. 2) verursachten meist eine vorübergehende Tonuszunahme (am Meerschweinchen- und Rattendarm nur eine solche) mit nachfolgender Verbesserung der

[10] Vgl. SCHULZ: Vorlesungen, 2. Aufl. S. 113, 1929. — [11] MARFORI: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **27**, 161 (1890). — [12] CHANG-SHAW: J. Phamacol. (Am.) **71**, 178 (1941). — [13] RAYMOND-HAMET: C. r. Acad. Sci., Par. **197**, 1354 (1933). — [14] HANZLIK: Zit. nach STARKENSTEIN in HEFFTERS Handbuch Bd. II/2, S. 1094.

Kontraktionen. Eine Tonusabnahme bzw. eine Verschlechterung der Darmtätigkeit unter Berberis bekamen wir niemals zu Gesicht.

Abb. 1. Isolierter Kaninchendünndarm in 100 ccm Tyrode. Zeit: 1 cm = etwa 1 Min. Keine Beeinträchtigung der Acetylcholinwirkung durch schwache Berberiskonzentrationen. *A* Zugabe von Acetylcholin (0,25 ccm 1:500000); *B* Berberis (0,2 ccm der vom Alkohol befreiten und mit Wasser ergänzten Urtinktur 1:100; Konzentration in der Badeflüssigkeit 1:50 000); × Wechsel der Badeflüssigkeit („Auswaschen").

Abb. 2. Isolierter Kaninchendünndarm in 100 ccm Tyrode. Zeit: 1 cm = etwa 1 Min. Abschwächung bzw. Verschwinden der Acetylcholinwirkung durch starke Berberiskonzentrationen. *A* Zugabe von Acetylcholin (0,25 ccm 1:500 000); *A'* Zugabe von Acetylcholin (1 ccm 1:500 000); *B* Berberis (0,2 ccm der vom Alkohol befreiten und mit Wasser ergänzten Urtinktur; Konzentration in der Badeflüssigkeit 1:500).

Durch schwache Konzentrationen von Berberis wurde die Wirkung einer nachfolgenden Acetylcholingabe nicht, oder kaum beeinflußt, während stärkere Dosen diese abschwächten oder ganz aufhoben. Eine

normale Reaktion auf Acetylcholin kehrte in solchen Fällen erst nach oft wiederholtem „Auswaschen" und auch dann meist nur zum Teil wieder.

Chelidonium führte am isolierten Kaninchendarm erst in der Konzentration 1:500 zu einer geringen Zunahme der Amplituden, wobei die Acetylcholinwirkung unverändert blieb. Stärkere Dosen (1:250—1:25) bewirkten ebenfalls eine Verbesserung der Kontraktionen eventuell mit

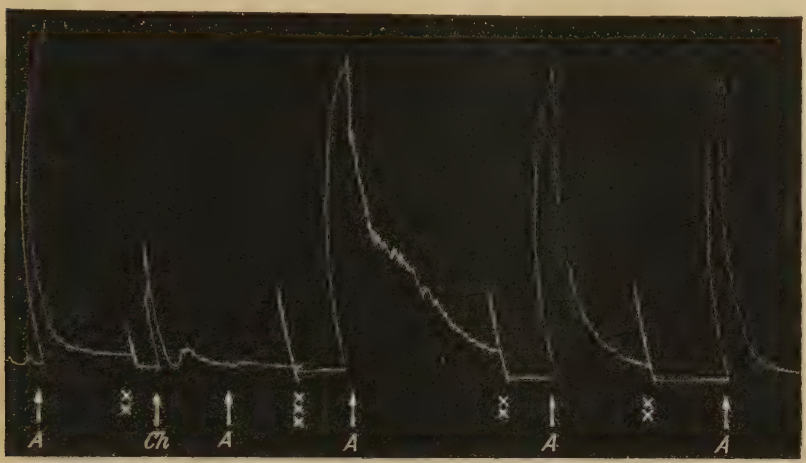


Abb. 3. Isolierter Meerschweinchendünndarm in 100 ccm Tyrode. Zeit: 1 cm etwa 1 Min. Ausbleiben der Acetylcholinwirkung nach Chelidonium-Zugabe und Verstärkung derselben nach Auswaschen (Potenzierung der Acetylcholinwirkung durch im Gewebe verbliebene kleine Chelidoniummengen?) *A* Zugabe von Acetylcholin (1 ccm 1:1 Million); *Ch* Zugabe von Chelidonium (2 ccm der vom Alkohol befreiten und mit Wasser ergänzten Urtinktur; Konzentration in der Badeflüssigkeit 1:500); × Auswaschen.

vorübergehender Tonusabnahme (am Meerschweinchen- und Rattendarm nur Tonussteigerung) und schwächten auch die Wirkung hinzugegebenen Acetylcholins ab bzw. verhinderten sie vollständig. Eine solche sich vom Berberiseffekt grundsätzlich nicht unterscheidende Wirkung des Chelidoniums am Meerschweinchendarm ist in Abb. 3 zu sehen, die wir noch aus dem Grunde bringen, weil sie uns (nach wiederholtem Auswaschen des Giftes) eine *verstärkte* und bei weiteren Zugaben von Acetylcholin eine erst allmählich wieder normal werdende Wirkung desselben zeigt.

Diese am Meerschweinchendarm nach hohen Chelidoniumdosen von uns wiederholte festgestellte aber nicht immer sicher reproduzierbare Erscheinung ließe sich vielleicht mit Vorbehalt als Synergismus kleiner, nach dem Auswaschen noch im Gewebe verbliebener Mengen von Chelidonium mit Acetylcholin deuten, entsprechend der oben zitierten Beobachtung von Chang-Shaw[12] mit Berberin, die wir aber noch seltener machen konnten als mit Chelidonium.

Erwartungsgemäß war unter *Chelone* (in den Konzentrationen 1:250 bis 1:25) am isolierten Dünndarm gelegentlich wohl eine sehr geringe Tonuszunahme, jedoch keine sichere Abschwächung der Acetylcholinwirkung festzustellen.

Zum Schluß ergaben die Versuche mit *Berberinhydrochlorid*, daß dieses Alkaloid auf den isolierten Darm ganz ähnlich wirkt wie Berberis bzw. Chelidonium, und zwar führt es am Kanichendarm schon in den Konzentrationen 1:1 Million bzw. 1:400000 meist zu einem geringen

Abb. 4. Isolierter Kaninchendünndarm in 100 ccm Tyrode. Zeit: 1 cm = etwa 1 Min. Abschwächung der Acetylcholinwirkung durch verschiedene Konzentrationen von Berberin. *A* Zugabe von Acetylcholin (0,25 ccm 1:500000); *B* Zugabe von Berberinhydrochlorid (1 ccm 0,25 %; Konzentration in der Badeflüssigkeit 1:200000); B′ Zugabe von Berberinhydrochlorid (1 ccm 0,5 %; Konzentration in der Badeflüssigkeit 1:20000); × Auswaschen.

Anstieg der Amplituden, ohne jedoch dabei die Wirkung einer nachfolgenden Acetylcholingabe zu beeinträchtigen. Erst etwa von der Konzentration 1:200000 ab macht sich auch eine Abschwächung derselben bemerkbar und bei den Konzentrationen 1:20000 bis 1:10000 verschwindet die Acetylcholinwirkung fast vollständig (vgl. Abb. 4).

Vergleicht man die darmwirksame Konzentration des Berberinhydrochlorids mit den errechneten Berberinkonzentrationen der wirksamen Berberis- und Chelidoniumdosen, so ist auch hier eine gewisse Übereinstimmung unverkennbar, woraus gefolgert werden dürfte, daß die beobachteten Wirkungen in der Hauptsache auf das Berberin zurückzuführen sind, wobei das Oxyacanthin der Berberis und das Chelidonin des Chelidoniums vielleicht unterstützend mit beteiligt sind.

Zusammenfassung.

1. Berberis und in bedeutend schwächerem Maße auch Chelidonium bewirken am Meerschweinchen eine gewisse Zunahme der Gallenmenge. Chelone erwies sich in dieser Hinsicht als praktisch unwirksam. Da der Erfolg bei der Ratte ausbleibt, wird die Wirkung als eine cholekinetische aufgefaßt.

2 Als Stütze dieser Auffassung dient die Tatsache, daß die genannten drei Drogen sich sowohl hinsichtlich der Beeinflussung der glatten Muskulatur des isolierten Dünndarmes als auch in ihrem Verhalten zum Acetylcholin dem Wirkungsgrade nach ganz ähnlich einstufen lassen, wie hinsichtlich ihres galletreibenden Vermögens.

3. Die hierbei zu Tage tretende qualitative Ähnlichkeit der Wirkungen von Berberis und Chelidonium (Tonussteigerung und Verbesserung der Kontraktionen bei fast gleichzeitiger Abschwächung der Acetylcholinwirkung) lassen das wirksame Agens vor allem im Berberin vermuten, das auch im Chelidonium enthalten ist.

4. Erwartungsgemäß beeinflußt denn auch Berberinhydrochlorid Bewegungen und Tonus des isolierten Dünndarms sowie die Acetylcholinwirkung in grundsätzlich gleicher Weise wie Berberis und Chelidonium und wirkt am Meerschweinchen in höheren Dosen auch galletreibend.

Betrachtungen über das Acetylcholin und die Übertragung der Erregung vom Nerven auf den Muskel*.

Von

Otto Riesser.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Seitdem im Jahre 1914 Hunt das schon viele Jahre vorher von ihm erstmalig dargestellte und als parasympathisch erregend erkannte Acetylcholin hinsichtlich seiner pharmakologischen, vor allem seiner blutdrucksenkenden Wirkung eingehend untersucht hatte und das Interesse an dieser Substanz durch die Arbeiten anderer Forscher, vor allem von Guggenheim, ständig gewachsen war, gab Loewi in seinen bekannten klassischen Untersuchungen aus dem Jahre 1921 den Anstoß zu völlig neuen und grundlegenden Betrachtungen und Versuchen. Erst durch ihn gewann die schon früher von Fano und von Elliot geäußerte Idee der humoralen Übertragung im vegetativen Nervensystem ihre allgemein gültige experimentelle Grundlage. Seither hat sich das Studium besonders des Acetylcholins und seiner Wirkungen zu einem Kapitel der Biologie entwickelt, das weit über die ursprünglichen pharmakologischen Gesichtspunkte hinaus wichtigste Grundfragen der Physiologie und pathologischen Physiologie umfaßt. Die Pharmakologie selbst wurde dabei durch den Ausbau des Prinzips der Potentialwirkung im Sinne von W. Straub bereichert. Obwohl nicht zuletzt durch die Arbeiten von Heubner und seinen Schülern die von Anfang an manchen Einwänden ausgesetzte Theorie der Potentialwirkung wesentlich an Bedeutung verloren hat, so ist doch von ihrer Prüfung mancherlei Anregung pharmakologischen Denkens ausgegangen.

Inzwischen hat das Studium der physiologischen Rolle von im Körper gebildeten und in den Körpersäften sich verbreitendem Acetylcholin als eines Hormons nicht nur des parasympathischen, sondern des gesamten Nervensystems wesentliche Fortschritte gemacht, wobei die parallel laufenden, ebenfalls von Loewi entscheidend beeinflußten und dann zunächst von Plattner geförderten Studien über Vorkommen und Wirkung der Cholinesterase das Bild ergänzten[1]. Die Fülle der Beobachtungen und die Mannigfaltigkeit ihrer Deutungen ist so

* Herrn Prof. Heubner zum 70. Geburtstag.

[1] Die ältere Literatur über Acetylcholin bei O. Riesser: Arch. exper. Path. **161**, 34 (1931).

groß geworden, daß die Gefahr der Unübersichtlichkeit und der Unklarheit der Vorstellungen außerordentlich gewachsen ist. Es scheint daher nützlich, immer wieder eine gedankliche Ordnung des Vorhandenen zu versuchen so, wie sie schon vor 10 Jahren durch Brown[2] durchgeführt und auch von Eccles 1936[3] vorgenommen wurde. Es ist dies um so mehr erwünscht, als hier wie auf so manchem anderen Forschungsgebiet der Mangel an gedanklicher Klärung hemmend gewirkt hat. Dabei darf die Schwierigkeit einer Darstellung nicht verschwiegen werden. Sie wird im gegenwärtigen Zeitpunkt bestenfalls nur teilweise gelingen können und sich darauf beschränken müssen, neben den Ergebnissen die Problematik aufzuweisen.

Während die muskarinartige Wirkung des Acetylcholins auf glatte Eingeweidemuskeln sowie auf Herz und Blutgefäße ein relativ klares und einheitliches Bild ergibt, das mit den Folgen der Reizung der parasympatischen Nerven sich deckt, führt das Studium der am neuromuskulären System gefundenen Acetylcholinwirkungen zu einer Reihe schwierigerer, aber offensichtlich grundsätzlicher Probleme. Auf dieses Gebiet will ich mich in den folgenden Ausführungen im wesentlichen beschränken.

Die erste Beobachtung über die Wirkungen des Acetylcholins auf den Skeletmuskel war die einer langsamen Dauerverkürzung von Froschmuskeln, die in eine hochverdünnte Lösung der Substanz eingetaucht wurden[4]. Diese Verkürzung, die so lange anhielt als die wirksame Substanz zugegen war und die sich durch Auswaschen derselben als völlig reversibel erwies, schien durchaus gleichen Charakters zu sein wie die schon lange bekannte an glatten Muskeln durch Acetylcholin ausgelöste Kontraktur und gleich dieser wurde sie durch Atropin, allerdings in hohen Dosen, aufgehoben oder verhütet. Von Anfang an war deutlich, daß es sich hier nicht um ein Kunstprodukt handelte, um Kontrakturen, wie man sie durch allerhand mehr oder weniger schädigende Stoffe hervorbringen kann, sondern daß eine physiologische Teilfunktion des Muskels in gleichsam übertriebener oder isolierter Form zur Darstellung kam. Die Feststellung, daß die Acetylcholin-Dauerverkürzung ohne oszillierende Aktionsströme verläuft, war grundsätzlich wichtig, denn sie reihte diese Kontraktur in die Gesamtheit jener Dauerverkürzungsformen ein, die auch unter physiologischen Verhältnissen nicht nur an glatten Muskeln, sondern auch, wie z. B. im Falle der Tiegelschen und der Bremerschen Kontraktur, an quergestreiften Muskeln beobachtet werden.

---

[2] Brown, G. L.: Physiol. Rev. (Am.) **17**, 485 (1937). — [3] Eccles, J. C.: Erg. Physiol. **38**, 339 (1936). — [4] Riesser, O. u. S. M. Neuschloss: Arch. exper. Path. **91**, 342 (1921).

Die Tatsache, daß eine so spezifisch parasympathisch erregend wirkende Substanz, die überdies seit Loewis Untersuchungen als humoraler Übertragungsstoff des Parasympathikus galt, auch am Muskel eine typische Wirkung entfaltet, legte zunächst den Gedanken nahe, daß man nun den pharmakologischen Beweis für die bisher vergeblich gesuchte und doch aus vielerlei Gründen postulierte parasympathische Innervation der Skeletmuskeln gefunden habe und damit zugleich einen neuen Zugang zu dem immer noch ungelösten Problem des Muskeltonus. Trotz mancher Anhaltspunkte, die sich für eine derartige Annahme ergeben, kann sie jedoch nicht gesichert erscheinen, solange nicht auch histologisch das Vorkommen parasympathischer Nervenbahnen neben den längst bekannten sympathischen auch im Skeletmuskel nachgewiesen werden kann. Es ist aber in diesem Zusammenhang wichtig festzustellen, daß die sympathischen Nerven, die im gemischten Nervenstamm oder in den Gefäßwandungen den Muskel erreichen, mindestens teilweise nicht adrenergisch, sondern cholinergisch sind.

Die Vorstellung einer vegetativ gesteuerten spezifischen Tonusfunktion erhielt neue Anregung durch die Beobachtungen über die sog. pseudomotorischen Kontraktionen der Skeletmuskeln. Zuerst an der Zunge beobachtet (Phänomen von Vulpian und Heidenhain) und dann durch Sherrington am Gastrocnemiusmuskel aufgewiesen, kommen diese langsamen Dauerverkürzungen dann zustande, wenn nach Degeneration der motorischen Nerven die nicht degenerierten sensiblen oder vegetativen Nervenfasern gereizt werden.

Es ist sehr eindrucksvoll, daß genau die gleiche Art der Dauerverkürzung unter den gleichen Bedingungen vorheriger Nervendurchschneidung auch durch Injektion von Acetylcholin in die zuführende Arterie zustande kommt und daß ferner die Kontraktur auslösende Nervenreizung mit einer Mehrbildung von Acetylcholin im Muskel einhergeht. Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß nach der Durchschneidung eines gemischten Nervenstammes nur ein Teil der Fasern entartet, während andere übrig bleiben, deren Reizung eine spezifische Kontraktur auslöst unter gleichzeitiger Bildung von Acetylcholin. Es wäre sehr erwünscht, daß entsprechende Reizversuche am peripheren Stumpf des durchtrennten N. ischiadicus mit der selektiven Reizmethode von Lullies[5] ausgeführt würden. Auf Grund der jeweils wirksamen oder unwirksamen Frequenz der Wechselströme könnte man einen Schluß auf die Natur der die Reaktion auslösenden Nervenfasern ziehen. In diesem Zusammenhang muß besonders der Untersuchungen von Haeggquist[6] gedacht werden, der durch vorübergehende

[5] Sullies, H.: Erg. Physiol. **38**, 621 (1936). — [6] Haeggquist, G.: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **43**, 491; **44**, 169 (1938).

Abdrosselung der Blutzufuhr bei Kaninchen eine Dauerkontraktur der Hinterbeinmuskeln erzeugte und nachwies, daß dann alle dicken und in typischen Endplatten endigenden Fasern des N. ischiadicus entartet waren, während die feinen Fasern, die HAEGGQUIST als extrapyramidale anspricht, nebst ihren charakteristischen traubenförmigen Endigungen am Muskel erhalten blieben*. Die Möglichkeit, daß die tonomotorischen und die im Muskel Acetylcholinbildung auslösenden Fasern dem extra-pyramidalen System angehören, gewinnt ja ihr besonderes physiologisches wie klinisch-neurologisches Interesse durch die von MAGNUS und RADEMAKER erwiesene Bedeutung des extrapyramidalen Systems für tonische Phänomene ganz allgemein.

BROWN hat die Auffassung begründet, daß bei den pseudomotorischen Kontrakturen die Bildung des Acetylcholins gar nicht im Muskel, sondern an den sich sehr stark erweiternden Blutgefäßen stattfindet und daß von dort her die wirksame Substanz in die Muskelfasern übertritt. Diese Gefäßerweiterung sei die Folge der Erregung sympathischer, aber cholinergischer Nerven, deren Existenz als erwiesen gelten kann. Eine solche indirekte Muskelwirkung wäre um so eher möglich, als in den entnervten Muskeln keine Cholinesterase enthalten und das einmal gebildete Acetylcholin, das sonst durch das Ferment schnell verseift und unwirksam gemacht wird, daher relativ stabil ist. Die besonders von VAN DIJK[7] hervorgehobene Tatsache, daß Gefäßerweiterung und pseudomotorische Kontraktur stets gleichzeitig verlaufen, sowie die lange Latenz des Beginnes der Verkürzung nach dem Reiz sprechen im Sinne der BROWNschen Annahme. Damit würde allerdings die pseudomotorische Kontraktur ihre große theoretische Bedeutung weitgehend einbüßen, es sei denn, daß man, wofür sich auch manches anführen läßt, beide Vorgänge, sowohl den am Muskel selbst als auch den an den Gefäßen sich abspielenden, als funktionell gleichwertig und gleichzeitig betrachtet.

Die Frage, ob das kontraktile Substrat der langsamen tonischen Dauerverkürzungen identisch ist mit dem der schnellen sog. „phasischen" Zuckungen oder ob man eine Dualität des Substrats ebenso wie eine Dualität der Innervation im Skeletmuskel annehmen müsse, ist bekanntlich ein die Physiologen nicht minder als die Neurologen lebhaft interessierendes Problem. Es kann kein Zweifel darüber bestehen, daß die positiven Befunde und Argumente zugunsten der doppelten Funktion und des doppelten funktionellen Substrats der Skeletmuskeln sehr vielfältig und sehr schwerwiegend sind. Es gehört hierher

* In grundlegenden Versuchen haben soeben KUFFLER und seine Mitarbeiter die rein tonomotorische Funktion der dünnen Fasern des motorischen Nerven bewiesen. J. of Neurophysiol. **10**, 383, 395 (1947).

[7] VAN DIJK, J. A.: Arch. néerld. Physiol. **20**, 327 (1935).

auch die Summe der Beobachtungen, durch die die verschiedene Empfindlichkeit der einzelnen Muskelarten gegen Acetylcholin in Beziehung gesetzt werden konnte zu ihrer mehr oder weniger ausgeprägten tonischen Haltefunktion und zu ihrem Anteil an acetylcholin-empfindlichen und -unempfindlichen Fasern (Freund, Sommerkamp, Wachholder). Besonders eindrucksvoll ist der Nachweis (Rückert), daß bei der Entwicklung vom Fetus zum lebenden Jungtier ein völlig paralleles Fortschreiten des Übergangs von tonischer Funktion zur phasischen mit einem entsprechenden von hoher zu niedriger Acetylcholinempfindlichkeit einhergeht.

Es spricht ferner sehr für die Dualität der Skeletmuskelfunktionen, daß die acetylcholinempfindlichen Fasern eines Muskels hinsichtlich ihrer physikalischen und physiologischen Eigenschaften den glatten Muskeln sehr nahe stehen. Sie zeigen wie jene eine galvanische Dauererregbarkeit, das leichte Ansprechen auf mechanische Reize, die Neigung zu lokalen nicht fortleitbaren Kontraktionen die Eigenschaft der Plastizität und hohe Acetylcholinempfindlichkeit. Es ist sehr interessant, daß nach Denervierung die Skeletmuskeln, selbst wenn sie vorher kaum acetylcholinempfindlich waren, nunmehr schon auf sehr geringe Konzentration mit einer Kontraktur reagieren und daß sie mehr und mehr die soeben aufgeführten Eigenschaften glatter bzw. tonischer Muskeln annehmen. Man gewinnt den Eindruck, daß solange die neuromuskuläre phasische Einheit aus Endplatte und Muskelfaser funktionstüchtig bleibt, die tonische Phase unterdrückt ist und daß diese nur dann teilweise oder ganz in Erscheinung tritt, wenn entweder der phasische Mechanismus von Haus aus schwächer angelegt oder wenn er künstlich durch Denervierung ausgeschaltet ist. Es läßt sich aber zeigen, daß zum mindesten ein Teil der geschilderten Eigenschaften denervierter Muskeln darauf zurückzuführen ist, daß die Menge der Cholinesterase von dem Bestehen der motorischen Endplatte und von ihrer Funktionsfähigkeit abhängig ist und daß dementsprechend die Menge des jeweils zur Wirkung kommenden Acetylcholins und die Dauer wie die Stärke seiner Wirkung wechseln muß.

Geht man, wie wir es getan haben, von der Erscheinung der Acetylcholinkontraktur aus, so ergibt sich ein relativ einheitliches und gut begründetes Bild von der Bedeutung des Acetylcholins für die tonischen Teilfunktionen der Muskeln, wobei die Beziehungen zum vegetativen Nervensystem, vielleicht auch zum extrapyramidalen, erkennbar sind.

Die Problematik der physiologischen Bedeutung des Acetylcholins gewinnt nun eine ganz neue Beleuchtung durch die Ergebnisse von Feldberg und Gaddum[8], die uns zwingen, die oben besprochenen

[8] Feldberg, W. u. J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) 81, 305 (1934).

von den neu gefundenen Erscheinungen abzugrenzen. Die genannten Forscher entdeckten nämlich zuerst, daß bei der elektrischen Reizung präganglionärer Fasern im zugehörigen Ganglion Acetylcholin freigesetzt wird und daß dieser chemische Vorgang mit der Übertragung der Erregung von der präganglionären Faser auf das Ganglion in engstem Zusammenhang steht. Nach Durchschneidung und Degeneration der präganglionären Faser wird im direkt gereizten Ganglion kein Acetylcholin mehr gebildet, die Erregung selbst aber auf die postganglionäre Faser und auf das Erfolgsorgan in normaler Weise weiter geleitet. Aus dieser Beobachtung mußte geschlossen werden, daß die Bildung des Acetylcholins im Ganglion für die Erregungsübertragung vom präganglionären Nerv auf das Ganglion notwendig ist. Unmittelbar im Anschluß an jene Entdeckung fanden Dale und Feldberg[9], daß bei der Reizung motorischer Nerven im Skeletmuskel ebenfalls Acetylcholin gebildet und an die Durchströmungsflüssigkeit abgegeben wird. Dieser Vorgang ist streng auf die Gegend der Endplatten beschränkt. Die Bildung des Acetylcholins hängt also mit der Endplattenerregung zusammen. Wieder zeigte es sich, daß die Acetylcholinbildung nur so weit und so lange erfolgt, als die Verbindung zwischen motorischem Nerv und Endplatte intakt ist. Nach Nervdegeneration bleibt auch bei direkter elektrischer Reizung und Kontraktion des Muskels die Acetylcholinbildung aus. Damit ist erwiesen, daß nur die *Übertragung* der Erregung vom Nerv auf die Endplatte von Acetylcholinbildung begleitet oder bedingt ist, daß aber die Kontraktion der Muskelfaser selbst von der Acetylcholinbildung unabhängig ist.

Die Ähnlichkeit im Verhalten der motorischen Endplatte einerseits mit dem der Ganglien andererseits gegenüber Acetylcholin ist ein eindrucksvoller Beitrag zu der von W. Eichler[10] geäußerten Anschauung, daß die motorische Endplatte eine Art Ganglion darstelle, dessen präganglionärer Nerv die motorische Faser sei, während die Verbindung zwischen Endplatte und Fibrille, vielleicht in Form von Boekes präterminalem Netzwerk, die postganglionäre Strecke darstelle.

An Hand der bisher erörterten Befunde wäre die Annahme berechtigt, daß die Bildung von Acetylcholin an der motorischen Endplatte diejenigen Bedingungen schafft, die zur Auslösung einer elektrischen Entladung in der Endplatte und damit des eigentlichen Reizes für die Kontraktion der Muskelfibrille erforderlich sind. In dieser Hinsicht sei darauf hingewiesen, daß Acetylcholin an der Endplatte stark depolarisierend wirkt (Eccles, Kuffler).

[9] Dale, H. H. u. W. Feldberg: J. Physiol. (Brit.) 81, 39 P (1934). — [10] Eichler, W.: Z. Biol. 99, 243, 266 (1939).

Demgegenüber zeichnet sich aber im Schrifttum deutlich die Tendenz ab, anzunehmen, daß das an der Nervenendigung gebildete Acetylcholin nicht nur die Übertragung der Erregung ermöglicht, sondern daß es, von der Nervenendigung bzw. der Nervenendplatte austretend, die Fibrille zur Verkürzung bringt, daß es also nicht nur die Erregung übertragend wirke, sondern auch *Verkürzungssubstanz* sei.

Diese Betrachtungsweise wurde veranlaßt durch die Beobachtungen von Feldberg und Vartiainen[11] sowie von Brown, Dale und Feldberg[12], daß eine nah am Ganglion oder am Muskel erfolgende intraarterielle Injektion hochverdünnter Acetylcholinlösungen einen typischen Erregungsvorgang auslöst. Beim Ganglion wird die postganglionäre Faser erregt und das Endorgan spricht an. Beim Muskel kommt es zu einer ganz regelrechten schnellen Zuckung in Form eines kurzen Tetanus mit oszillierenden Aktionsströmen und hoher Spannungsleistung. Man ist also berechtigt anzunehmen, daß das Acetylcholin, künstlich an die Nervenendigung herangebracht, ebenso als Erreger der Endplatte wirksam ist wie das bei der Nervenreizung gebildete. Schwer erklärbar aber erscheint zunächst die Tatsache, daß auch nach Degeneration des durchtrennten motorischen Nerven und dem Aufhören jeder indirekten elektrischen Erregbarkeit eine arterielle Nahinjektion minimaler Acetylcholinmengen ebenfalls starke tetanische Kontraktion auslöst, obwohl, wie man meinen sollte, als Folge der Denervierung die Endplatte unerregbar wurde. Trifft dies zu, dann müßte Acetylcholin nun wirklich als eine direkt auf die Muskelfaser wirkende Verkürzungssubstanz betrachtet werden und seine Wirkung wäre derjenigen analog, die bei Reizung eines cholinergischen vegetativen Nerven am glatten Muskel eintritt wo das an der Nervendigung gebildete Acetylcholin tatsächlich die Muskelfaser direkt zur Verkürzung bringt.

Diese an sich scheinbar zwingende Schlußfolgerung stößt aber auf mehr als einen Widerspruch. An sich schon ist es höchst unwahrscheinlich, daß die Acetylcholinwirkung, die uns im parasympathischen Geschehen und bei der einfachen Acetylcholindauerkontraktur der Skeletmuskeln begegnet, identisch sei mit der Wirkung, die bei der Auslösung der Zuckungen durch Acetylcholin vorliegt. Diese wird, was wichtig zu bemerken ist, auch bei naharterieller Injektion von Nikotin selbst sowie von anderen Nikotin ähnlich wirkenden Stoffen von Adenosintriphosphorsäure und auch von Kaliumsalzen bewirkt. Den stärksten Gegengrund aber muß man in der oben erwähnten Tatsache sehen, daß, wenn nach Nervdegeneration jede Acetylcholinbildung im Muskel erloschen ist, die direkte Reizung dennoch eine normale

[11] Feldberg, W. u. A. Vartiainen: J. Physiol. (Brit.) **83**, 103 (1934). — [12] Brown, G. L., H. H. Dale u. W. Feldberg: J. Physiol. (Brit.) **87**, 394 (1936).

Kontraktion auslöst. Die Kontraktilität der Muskelfaser auf elektrischen Reiz ist also offensichtlich nicht an die Bildung von Acetylcholin gebunden.

Angesichts dieser Tatsache muß man sich überlegen, ob eigentlich bei der Nervdegeneration die gesamte motorische Endplatte funktionslos wird oder etwa nur ein Teil von ihr. Beim Ganglion ist es bestimmt so, daß nach Durchschneidung der präganglionären Faser nur die Übertragung der Erregung auf die Zellen des Ganglions unterbrochen wird, während die Ganglienzellen selbst und alle postganglionären Fasern funktionsfähig bleiben. Dementsprechend sollte man annehmen, daß auch nach Degenerierung des motorischen Muskelnerven zwar die Überleitung vom (präganglionären) motorischen Nerv auf die Endplatte, nicht aber die von der Endplatte auf die Fibrille aufgehoben ist*. Dieser Teil der Struktur ist es aber, der wahrscheinlich bei der Auslösung der Zuckung maßgebend ist. Wir könnten uns also vorstellen, daß eine nach Nervdegeneration erfolgende naharterielle Acetylcholininjektion den noch funktionsfähigen Teil der Endplatte erregt und daß sie ebenso wirkt wie das normalerweise bei der Erregung vom motorischen Nerv aus an der Endplatte gebildete Acetylcholin.

In diesem Zusammenhang soll besonders an die „receptive substance" von Langley und Paton erinnert und auf die Befunde von Buchthal und Lindhard[13] hingewiesen werden, die gezeigt haben, daß Curare zuerst nur die Grenzschicht zwischen Nerv und Endplatte, nicht aber die zwischen Endplatte und Fibrille blockiert, so daß ein direkt an der Endplatte angebrachter Reiz wirksam bleibt. Acetylcholin scheint nur an der ersten Grenzfläche und nicht an der zweiten zu wirken, während Kaliumsalze im Gegensatz dazu nur die zweite Grenzfläche beeinflussen. In diesen Versuchen von Buchthal und Lindhard sieht man, daß das Acetylcholin bei der ersten Berührung mit der Nervendigung eine schnelle Zuckung auslöst, daß aber ein zweiter Versuch die Nervendigung für Acetylcholin unempfindlich findet, während elektrischer Reiz voll wirksam bleibt. Damit ist aber grundsätzlich erwiesen, daß die Endplatte auch dann noch auf elektrischen Reiz reagiert, wenn Acetylcholin selbst nicht mehr ins Spiel kommen kann. Schon früher ist von anderen Untersuchern gezeigt worden, daß Acetylcholin, wenn es an der Endplatte höhere Konzentrationen erreicht, die indirekte Erregbarkeit aufhebt. Angesichts dieser Tatsache wird ja auch die Rolle der an den Nervendplatten konzentrierten Cholinesterase so

* Das Erhaltenbleiben einer spezifischen hohen Erregbarkeit an der Stelle der Endplatte lange nach Nervdurchschneidung hat schon 1917 Keith Lucas gezeigt. Kuffler hat es neuerdings [J. of Neurophysiol. **6**, 99 (1943)] auch für die Acetylcholinempfindlichkeit erwiesen.

[13] Buchthal, Fr. u. J. Lindhard: Acta physiol. Scand. **4**, 136 (1942).

aufgefaßt, daß sie das bei der Reizung jeweils gebildete Acetylcholin schnell unschädlich macht und seine Anhäufung verhindert; ob es allerdings möglich und überhaupt nötig ist, daß dieser Prozeß innerhalb der so kurzen Refraktärperiode vollständig abläuft, ist noch immer eine ungelöste und mit berechtigten Zweifeln belastete Frage. Für die Beurteilung der von uns geschilderten Versuche ist auch die Überlegung nicht ohne Belang, daß es vielleicht nicht gleichgültig ist, ob die Substanz momentan und direkt an der Nervenendigung gebildet wird oder ob sie auf dem Blutwege, der in diesem Fall nicht der natürliche ist, an die Endplatte herangeführt wird. Man könnte sich vorstellen, daß bei dem letztgenannten Verfahren eine Wirkung nur in dem Augenblick eintritt, wo die Acetylcholinkonzentration plötzlich von nahezu Null auf einen relativ hohen Wert ansteigt, während bei weiter anhaltender Wirkung die Lähmung in Erscheinung tritt. Nur der Konzentrationssprung wirkt also erregend, nicht die Dauerveränderung.

Aus alledem ergibt sich die Vorstellung, da die bei der Reizung eines motorischen Nerven zunächst in ihm selbst, sodann an seinen Endigungen auftretende momentane Freisetzung von Acetylcholin an der motorischen Endplatte ein plötzlich ansteigendes negatives Potential in Gestalt etwa des Endplattenstroms (H. Schaefer[14], Eccles[15]) auslöst und daß dann dieser die eigentliche Erregung der kontraktilen Faser zustande bringt. Es spielt also Acetylcholin nach dieser Auffassung ausschließlich die Rolle einer Übertragungssubstanz der Erregung, ohne selbst verkürzend zu wirken. Gerade im Hinblick hierauf sei noch einmal hervorgehoben, daß bei direkter Reizung eines Muskels nach Nervdegeneration kein Acetylcholin mehr gebildet wird, daß aber die Zuckung dennoch erfolgt. Die Frage, ob auch nach Nervdegeneration die Endplatte selbst in Verbindung mit der kontraktilen Fibrille erregbar bleibt, darf heute bejaht werden.

Eine besondere Rolle muß dem Acetylcholin zugeschrieben werden, das an den nichtmotorischen, wahrscheinlich vegetativen, tonischen Nervenendigungen gebildet wird. Dieses ist direkt als Kontraktionssubstanz wirksam und erzeugt eine der künstlich bewirkten Acetylcholinkontraktur analoge langsam ansteigende und lang anhaltende Verkürzung. Das Substrat dieser Verkürzung trenne ich von dem der Zuckungsaktion. Es ist bei verschiedenen Muskeln verschieden stark ausgebildet. Bei niederen Tieren fand Bozler einen ganz eindeutigen Unterschied zwischen Tonus- und Tetanusfibrillen (besser phasischen Fibrillen) innerhalb ein- und derselben Faser mit grundsätzlich verschiedener Reaktionsart. Bei den Skeletmuskeln höherer Tiere sind vielleicht

[14] Göpfert, H. u. H. Schaefer: Pflügers Arch. **229**, 597 (1938). — Schaefer, H.: Elektrophysiologie, Bd. I, S. 204. Wien 1940. — [15] Eccles, J. C. u. W. J. O'Connor: J. Physiol. (Brit.) **97**, 44 (1939).

die beiden Anteile in der quergestreiften Fibrille derart beteiligt, daß nur die anisotrope Schicht jeweils auf den elektrischen Zündreiz der Endplatte reagiert, der seinerseits durch Acetylcholinbildung an der motorischen Nervenendigung ausgelöst wird. Dagegen reagiert vielleicht als Träger der tonischen Verkürzung die isotrope Schicht auf dasjenige Acetylcholin, das an den Endigungen vegetativer oder extrapyramidaler Fasern gleichzeitig gebildet wird. Es wäre sehr erwünscht, daß einmal untersucht wird, ob bei verschiedenen Muskelarten, die sich durch ihre Acetylcholinempfindlichkeit stark unterscheiden, das Verhältnis der anisotropen zur isotropen Schicht verschieden ist. Auch ist es notwendig, daß das histologische Bild der Acetylcholinkontraktur mit dem einer tetanischen Verkürzung verglichen wird. Für die Ansicht, daß die isotrope Schicht das Substrat des tonischen Funktionsanteils der Muskeln ist, hat sich früher schon Querido ausgesprochen und vor kurzem hat ohne Beziehung zu dieser Hypothese Reichel[16] sehr bemerkenswerte experimentelle Unterlagen für solche Überlegungen geschaffen. Die hier skizzierte Vorstellung würde eine Erklärung dafür geben können, daß in einem Muskel phasische und tonische Reaktion in wechselndem Maße miteinander kombiniert sind. Erst in ihrem Zusammenwirken bestimmen diese beiden Funktionen der Muskelfaser die Reaktions- und Tätigkeitsform der verschiedenen Muskeln.

Es ist nicht die letzte Absicht dieses Aufsatzes, die Notwendigkeit einer klaren Unterscheidung der beiden Funktionen des im Muskel gebildeten Acetylcholins so herauszustellen, wie es auf Grund der heutigen Kenntnisse erforderlich erscheint. In der Literatur wird dem nur zu oft nicht Rechnung getragen, was notwendig zu Mißverständnissen und Fehlschlüssen Anlaß gibt. Umso dringlicher ist es, die Funktion des an der motorischen Nervendigung gebildeten Acetylcholins als Überträger der Erregung vom Nerven auf die Endplatte durchaus zu trennen von der Wirkung des an den Endigungen vegetativer Nerven gebildeten Acetylcholins als unmittelbarer Verkürzungssubstanz glatter und tonischer Muskelfasern.

Das allgemeine Vorkommen des Acetylcholins im Organismus und seine vielfältigen Wirkungen, sowie alles das, was wir heute schon über die wechselnde Konzentration der Cholinesterase in verschiedenen Organen und Körperflüssigkeiten wissen, hat dazu geführt, daß man die Wirkungen dieser beiden interessanten Stoffe oder auch ihres Fehlens sehr vielen Vorstellungen zugrunde legt, sowohl hinsichtlich des physiologischen als auch des pathologischen Geschehens. Eine gewisse Zurückhaltung in dieser Hinsicht mag ratsam erscheinen, und sie ist

[16] Reichel, H.: Z. Biol. 97, 427 (1936).

um so notwendiger, als die Grundfragen hinsichtlich der Wirkungen und der physiologischen Bedeutung der beiden Stoffe noch mit sehr vielen Rätseln belastet sind. Schließlich ist auch dieser humoral-hormonale Mechanismus nur ein Glied in dem komplizierten Zusammenspiel des lebendigen Geschehens, und man muß sich ja immer wieder bemühen, von der isolierten Betrachtung des Einzelvorganges zur Einsicht in die größeren Zusammenhänge vorzudringen.

Unter den Forschern der neueren Zeit sind wenige dieser allgemein gültigen wissenschaftlichen Aufgabe so beispielhaft gerecht geworden wie unser heute 70 Jahre alter Heubner. Er ist uns vor allem ein Vorbild in der Erfüllung der nicht leichten Verpflichtung zu einer weit über das enge Fachwissen hinausgehenden allgemeinwissenschaftlichen und allgemein-geistigen Bildung. Ihm und uns gilt der Wunsch, daß er uns auf diesem Wege noch lange vorangehe.

Über die Rolle der Kohlensäure bei der Sauerstoffvergiftung*.

Von

K. Seelkopf und R. v. Werz.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Ein ausführliches Schrifttum beschäftigt sich mit der Symptomatologie der Sauerstoffvergiftung. In ihm besteht weitgehende Einigkeit betreffend der kritischen Konzentrationen und Einwirkungszeiten. Auch die Art der eintretenden Vergiftungserscheinungen wurde weitgehend geklärt. Als eines der konstantesten Phänomene des Vergiftungsbildes darf danach wohl die Schädigung der dem Sauerstoff am intensivsten ausgesetzten Lunge angesehen werden[1,2,3].

Im Gegensatz zur Symptomatologie ist die Pathogenese der O_2-Vergiftung noch weitgehend ungeklärt; insbesondere ist es noch offen, ob die fraglichen Vergiftungserscheinungen eine unmittelbare oder nur mittelbare Sauerstoffwirkung darstellen.

Die Annahme einer unmittelbaren Wirkung des Sauerstoffes im Sinne eines Protoplasmagiftes, wie sie schon durch das bevorzugte Befallenwerden der Lunge als der Eintrittspforte für den Sauerstoff, und vor allem durch die Schädigung verschiedener niedrig organisierter Lebewesen nahegelegt wird, ist verschiedentlich vertreten worden[4, 5, 6]. Einen Sonderfall dieser Auffassung bilden im übrigen die Hypothesen, welche die Sauerstoffvergiftung auf eine Schädigung des Systems von Atmungsfermenten zurückführen wollen. So wurde insbesondere eine Blokkierung der Zytochromoxydase[7], ferner eine Schädigung der Dehydrasen[8] verantwortlich gemacht. Zu den Fermenttheorien gehört auch die Annahme, wonach der Sauerstoff zunächst eine Schädigung der Karboanhydratase[9] setzen soll. Die genannten Fermenttheorien konnten jedoch einer kürzlich von uns vorgenommenen Nachprüfung[10] nicht standhalten, soferne sich weder für eine Schädigung des Atmungsfermentsystems noch der Karboanhydratase Anhaltspunkte fanden. Die entgegenstehenden Befunde anderer Autoren konnten dabei auf Nichtberücksichtigung methodischer Fehlerquellen zurückgeführt werden.

Obwohl durch diesen Befund eine unmittelbare Wirkung des Sauerstoffs auf anderweitige Substrate grundsätzlich nicht ausgeschlossen wird, so fehlt es derzeit doch an ausreichend gestützten Vermutungen über die mögliche Art eines solchen Wirkungssubstrats und dies dürfte auch ein Grund dafür sein, daß sich die Aufmerksamkeit der Forschung neuerdings den für eine mittelbare Giftwirkung des Sauerstoffs sprechenden Tatsachen zugewandt hat.

In dieser Hinsicht bedeutete es einen entscheidenden Schritt zur Kenntnis der Sauerstoffvergiftung, als Campbell 1929 mittels der von ihm eingeführten Gasblasenmethode (Analyse von ins Gewebe injizierten Stickstoffblasen nach Spannungsausgleich mit dem Gewebe) die Feststellung machte, daß es im Verlaufe der Vergiftung mit Überdruck-Sauerstoff gleichzeitig mit dem Anstieg der Sauerstoffspannung zu einem stetigen *Anstieg auch der CO_2-Spannung* im Gewebe kommt[11].

* Herrn Prof. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

Diese beachtlichen Befunde wurden neuerdings auch von anderen Autoren [12,13] bestätigt. Campbell selbst erklärte diese Anhäufung der Kohlensäure durch eine Störung des CO_2-Abtransports: Da von einem bestimmten Sauerstoffdruck an soviel physikalisch gelöster O_2 vorhanden ist, daß das venöse Blut nicht mehr reduziert wird, so fehlt das vom Oxyhämoglobin beanspruchte Alkali für den Transport der Kohlensäure. Dieser Erklärung Campbells schlossen sich im folgenden verschiedene andere Autoren an; in der Anhäufung der Gewebskohlensäure erblicken sie die eigentliche Ursache der Sauerstoffvergiftung, während andere wenigstens eine mehr-weniger weitgehende Mitbeteiligung der CO_2 am Bild der O_2-Vergiftung vermuten. In der Tat ist es nicht zu leugnen, daß eine ganze Reihe von Vergiftungserscheinungen[14] durch diese Theorie von Campbell zwanglos einer einheitlichen Erklärung zugeführt werden könnten. Dazu gehört

1. die charakteristische Senkung des Stoffwechsels und damit der Temperatur; denn es ist bekannt, daß Kohlensäure den O_2-Verbrauch senkt,
2. die giftigkeitssteigernde Wirkung stoffwechselsteigernder Stoffe wie Thyroxin, Dinitrophenol, Naphthylamin sowie umgekehrt,
3. die lebensverlängernde Wirkung stoffwechselsenkender Einflüsse wie stärkere Abkühlung, Narkose, Thyrektomie und des Fastens,
4. die giftigkeitssteigernde Wirkung kleiner Zusätze von CO_2 zum eingeatmeten Sauerstoff.

Auch die mehrfach beschriebene Vertiefung der Atmung wurde ebenso wie die Pulsverlangsamung und Blässe auf CO_2-Anhäufung zurückgeführt, obwohl dazu zu bemerken ist, daß diese Erscheinungen schon sehr frühzeitig und auch bei Sauerstoffdrucken auftreten, die für eine vollständige Sättigung des Venenblutes unzureichend sind.

Wenn die oben zusammengestellten Tatsachen unseres Erachtens im einzelnen auch anders gedeutet werden können, so ist doch wohl ihre Gesamtheit eindrucksvoll genug, um eine Entscheidung über die Gültigkeit der CO_2-Hypothese als die derzeit wichtigste Frage der Sauerstoffvergiftung erscheinen zu lassen.

Zur Klärung dieser Frage zogen wir einmal die reine Kohlensäurevergiftung zum Vergleich heran; sodann aber untersuchten wir den Einfluß von Säure- und Alkalizufuhr auf den Verlauf der Sauerstoffvergiftung. Bei diesen Versuchen leitete uns folgende Überlegung:

Ist die CO_2-Anhäufung die unmittelbare Ursache des Todes bei der Sauerstoffvergiftung, so müssen sich 1. im Augenblick des Todes die gleichen CO_2-Drucke im Gewebe finden, wie bei der unkomplizierten tödlichen CO_2-Vergiftung. Ferner muß 2. die Zufuhr von Alkali bzw. Erhöhung des Alkalibestandes im Körper die entstehende CO_2 zum Teil abfangen und die Sauerstoffvergiftung im Sinne eines Antidots beeinflussen: Es wäre also eine Verlängerung der Lebensdauer in Sauerstoff zu erwarten. Umgekehrt müßte die exogene Zufuhr fixer Säure die Erreichung kritischer CO_2-Drucke beschleunigen und damit die Lebensdauer in Sauerstoff verkürzen.

Diese Eingriffe bieten gegenüber den bisher, insbesondere von Campbell selbst herangezogenen Maßnahmen den Vorteil, daß sie nicht mit einer gleichzeitigen Änderung der Körpertemperatur verbunden sind. Läßt sich doch gegen die oben

erwähnten Argumente der CO_2-Hypothese der schwerwiegende Einwand erheben, daß z. B. Abkühlung des Tieres nicht nur die CO_2-Produktion hemmt, sondern daß entsprechend der RGT-Regel gleichzeitig auch die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen Gift (Sauerstoff) und Zellsubstrat verlangsamt wird. Der gleiche Einwand gilt ceteris paribus für die giftigkeitserhöhende Wirkung stoffwechselsteigernder und zugleich temperaturerhöhender Einflüsse wie sie in den CAMPBELLschen Versuchen mit Dinitrophenol und Tetrahydro-Naphthylamin angewandt wurden. Entscheidend war für unsere Versuche nach alledem die Kenntnis des Kohlensäuredruckes im Gewebe, welche tunlichst in verschiedenen Stadien der Vergiftung bestimmt werden mußte. Da sich die Tiere im Druckkessel befanden und nicht narkotisiert werden durften, um Atmung und Stoffwechsel nicht zu beeinflussen, war eine serienmäßige Blutentnahme zur Bestimmung der CO_2-Spannung bzw. Alkalireserve unmöglich. Während eine Entnahme erst nach der Druckentlastung wegen des raschen Ausgleichs erst recht nicht in Frage kam. Ein solches Vorgehen ist höchstens bei der CAMPBELLschen Gasblasenmethode zulässig, wo der Ausgleich mit dem Gewebe nur sehr langsam erfolgt. Andererseits wird aber gerade dieser Vorzug der Methode in jenen Fällen zum Nachteil, wo es erforderlich ist, rasch verlaufende Änderungen des Gasdruckes im Gewebe zu erfassen. Abgesehen von der technischen Unmöglichkeit einer Bestimmung der CO_2 im Blute unter hohen Sauerstoffdrucken war die Analyse der Blutgase aber auch aus einem anderen Grund nicht brauchbar. Wie schon erwähnt, arbeitet nämlich die Theorie von CAMPBELL mit der Annahme, daß die CO_2 bei entsprechenden Sauerstoffdrucken vom Blute nur noch im ungenügenden Umfange aufgenommen wird. Ist diese Annahme richtig, d. h. kommt die Retention der CO_2 an der Grenzfläche Gewebe/Blut zustande, so kann die volle Höhe des CO_2-Spiegels auch nur im Gewebe selbst nachgewiesen werden. Es war also für unsere Fragestellung unumgänglich, daß wir die CO_2 auch unsererseits im Gewebe selbst bestimmten.

Bestimmung des CO_2-Druckes im Gewebe.

Es ist ein entscheidender Vorteil der CAMPBELLschen Gasblasenmethode, daß sie die oben aufgestellten Forderungen erfüllt und dadurch erstmalig eine Bestimmung der im Gewebe selbst herrschenden Gasdrucke möglich gemacht hat. Wir griffen deshalb ihren Grundgedanken auf, versuchten aber gleichzeitig die ihr anhaftenden Nachteile zu umgehen, indem wir *anstatt eines Gases ein flüssiges Medium* benutzten.

Ins Gewebe eingebrachtes Gas hat naturgemäß das Bestreben, den Raum mit kleinster Oberfläche zu erfüllen. Gerade aber die Erzielung einer großen Oberfläche muß aber im vorliegenden Falle wünschenswert erscheinen. Während sich also in die Bauchhöhle eingebrachtes Gas am höchsten Punkt zu einer Blase sammelt, erfüllt eine wäßrige Lösung begierig alle Falten und Kapillarräume, so daß sie sich alsbald in dünner Schicht über die ganze Serosa des Peritoneums verteilt und damit eine ungleich viel größere Oberfläche ausbildet. Infolgedessen ist ein viel rascherer Spannungsausgleich gewährleistet.

Abgesehen davon, daß bei unserem Vorgehen der lästige Zwerchfellhochstand wegfällt, so daß Atmung und Kreislauf weniger behindert werden — was auch für die periphere Zirkulation in den Darmschlingen gilt —, so erlaubt die Verwendung eines flüssigen Mediums nicht nur die *zusätzliche Bestimmung des Säure-Basengleichgewichts*, sondern auch das Auskommen mit viel geringeren Volumina, insofern die Bestimmung der Gasspannungen nach VAN SLYKE schon mit 0,5—1 ccm erfolgen kann. Der unleugbare Vorteil der geringen Resorbierbarkeit von Stickstoff kann freilich niemals ganz erreicht werden; doch kann die Resorptionsgeschwindigkeit durch Zusatz indifferenter Kolloide soweit herabgesetzt werden, daß bis zum

Eintritt des Diffusionsgleichgewichtes stets genügend lange Zeiten zur Verfügung stehen, ohne daß bereits alle Flüssigkeit resorbiert worden wäre.

Methodik.

Zu den Versuchen wurden Meerschweinchen im Gewicht von 200—380 g verwendet. Die zu den Säure- bzw. Alkali-Versuchen bestimmten Tiere hatten dieselbe Fütterung erhalten wie die Kontrolltiere. Das Verhalten der Tiere in der Überdruckkammer von 35 Liter Inhalt konnte durch ein Fenster beobachtet werden.

Die Sauerstoffvergiftung wurde bei Sauerstoffdrucken von 4 atü (= 5 ata) sowie 1 ata und einer Raumtemperatur von etwa 20° C vorgenommen. Die Atmungskohlensäure wurde durch feuchten Natronkalk absorbiert. Dementsprechend betrug die relative Feuchtigkeit maximal etwa 50%. Vor Beginn der Versuche wurde die Luft der Kammer durch Sauerstoff verdrängt. Der Druckanstieg auf 4 atü erfolgte regelmäßig innerhalb 10 Min.; die Druckentlastung wurde, wenn die anschließende Tötung des Tieres erforderlich war, durch plötzliches Öffnen der Ventile vorgenommen, um einen nachträglichen Verlust an CO_2 aus den Geweben zu vermeiden.

30 Min. vor Beginn des O_2-Versuchs wurde den Tieren je nach Gewicht 6 bis 8 ccm einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung mit 6% Gummi arabicum körperwarm intraperitoneal injiziert. Am Schluß des Versuches wurde diese Lösung nach Tötung des Tieres mittels Troikar und Rekordspritze entnommen.

Bei der Bestimmung der Gesamtkohlensäure wurde zur Absorption der freien CO_2 eine bekannte Menge kohlensäurefreier Lauge in der Spritze vorgelegt; der Rest der im Peritoneum verbliebenen Flüssigkeit wurde zur Bestimmung der Alkalireserve nach van Slyke entnommen. Ausführung der Analysen in 1 ccm Flüssigkeit, wobei im Falle der Gesamt-CO_2 die vorgelegte Lauge berücksichtigt wurde. Die sog. Alkalireserve wurde ermittelt, indem die Flüssigkeit in der üblichen Weise mit Kohlensäure von 40 mm Hg ins Gleichgewicht gesetzt wurde.

Die in der Lösung befindliche *freie CO_2* wurde als Differenz der Gesamt-CO_2 minus der an Alkali gebundenen CO_2 ermittelt. Daraus Berechnung des CO_2-Druckes unter Berücksichtigung der Löslichkeit bei der jeweiligen Rektaltemperatur.

Außer der Rektaltemperatur wurde meistens auch das Harn-p_H vor und nach dem Versuch kolorimetrisch gemessen.

Zur Ansäuerung der Tiere gaben wir je Kilogramm insgesamt 333 mg NH_4Cl peroral in 5%iger Lösung. Diese Gesamtmenge entspricht etwa $^2/_3$ der mittleren tödlichen Dosis. Die äquivalente Alkalimenge wurde in Form einer Aufschwemmung von 125 mg/kg MgO durch Schlundsonde zugeführt. Die Alkalisierung in dieser Form hat den Vorteil, daß MgO nicht ätzt und je Gewichtseinheit große Säuremengen zu binden vermag.

CO_2-Vergiftung. Einige Tiere wurden zum Vergleich bestimmten CO_2-Konzentrationen ausgesetzt. Zu diesem Zwecke wurden die Meerschweinchen in einen Glasbehälter gebracht, der mit analysiertem CO_2/O_2-Gemisch durchströmt wurde. Entnahme von Gasproben zur Analyse nach Haldane am Auslaß des Behälters.

Auch hierbei fand die Bestimmung der CO_2-Tension anschließend in der oben beschriebenen Weise statt.

Ergebnisse.

1. Versuche mit Überdrucksauerstoff (5 ata).

Um in unseren Versuchen die Reduktion des venösen Blutes mit Sicherheit zu verhindern und damit das reduzierte Hämoglobin für den

CO_2-Transport auszuschalten, wählten wir von vornherein einen Druck von 4 atü, mit dem gleichzeitig auch Überlebenszeiten von methodisch geeigneter Dauer zu erzielen waren. Grundsätzlich war es nämlich wünschenswert, Überlebenszeiten zu erhalten, innerhalb deren einesteils ein vollkommener Druckausgleich zwischen Gewebe und „Aszitesflüssigkeit" gewährleistet, andererseits noch keine zu weitgehende Resorption derselben eingetreten sein sollte. Vorversuche an Normaltieren ergaben, daß die injizierte Flüssigkeit nach spätestens 1 Stunde den CO_2-Druck des Gewebes von etwa 50 mm angenommen hat, der sich danach nicht mehr ändert.

Die Resorption der Lösung war im allgemeinen nach 12 Stunden beendet; bereits nach 8 bis 10 Stunden bereitete es Schwierigkeiten, die zur Analyse benötigte Menge durch Punktion zurückzugewinnen. Wesentlich schneller erfolgte die Resorption bei der CO_2-Vergiftung, unter deren Wirkung (Hyperventilation — Wasserverlust!) die Lösung schon viel eher verschwand, so daß wir die Beobachtungszeiten in diesem Falle nicht über 2 Stunden ausdehnen konnten.

Bei den O_2-Versuchen dagegen standen uns für die Entnahme von Analysenproben mindestens 7 Stunden zur Verfügung, innerhalb deren wir den Gang der Vergiftung ohne Nachinjektion verfolgen konnten. Der Druck von 5 ata erwies sich als gerade richtig, um die Mehrzahl der Tiere innerhalb dieser Zeit zu töten. Dadurch wurde es uns möglich, Proben bis unmittelbar vor dem Tode zu entnehmen.

Tabelle 1.
Überlebenszeit normaler Tiere in 5 ata O_2.

Tier Nr.	Gewicht in g	Harn-pH vor	Harn-pH nach	Überlebenszeit in Min.
3	270	8,0	7,0	207
4	335	7,2	6,5	87
5	245	8,0	7,0	125
6	250	8,0	5,5	125
7	210	7,5	7,0	310
8	265	8,0	7,0	173
9	270	8,5	6,8	313
10	245	7,5	7,0	195
14	220	8,3	8,0	265
23	230	7,0	5,0	485
45	285	7,8	7,2	400
57	360	7,0	6,5	244
93	310	8,0	6,8	202
94	320	7,5	7,0	270
95	290	7,5	5,9	300
96	270	8,0	6,7	240
97	350	8,4	7,0	265
98	315	8,2	7,0	234
99	300	7,8	5,6	190
100	260	8,0	7,5	210
101	240	7,0	5,5	335
102	280	7,5	7,0	188

Mittel: *240 Min. = 4 Stunden*

In Tabelle 1 sind die Überlebenszeiten unvorbehandelter Tiere zusammengestellt.

Es ergibt sich daraus, daß die Überlebenszeiten nicht unerheblich schwanken, obwohl Raumtemperatur und Feuchtigkeit praktisch konstant waren. Die mittlere Überlebenszeit betrug 240 Min., was länger ist, als die in der Literatur angegebenen Werte. Wir vermögen diese Abweichung nicht zu erklären, möchten aber darauf hinweisen, daß die durchschnittliche Lebenszeit der Tiere im Hochsommer bei gleicher

Versuchstemperatur auf 120 Min. sank, während der oben angegebene Wert im zeitigen Frühjahr gefunden wurde.

Eine Tatsache, die sich mit auffälliger Regelmäßigkeit weiterhin ergab, ist die *Abnahme des Harn-p_H*, das uns im Hinblick auf die zu vermutende CO_2-Retention interessierte. In der Tat findet sich also die bei einer solchen zu erwartende Mehrausscheidung von Säure im Harn. Daß es sich hierbei praktisch nur um CO_2 handelt, ergab sich aus einigen Messungen, in denen wir die CO_2-Spannung gegenüber dem Ausgangsharn entsprechend der p_H-Abnahme erhöht fanden. Eine Messung der CO_2-Gesamtausscheidung durch den Harn war aus methodischen Gründen leider nicht möglich.

Das klinische Vergiftungsbild entsprach dem in der Literatur mehrfach beschriebenen. Demgemäß fanden sich gegen Ende der Vergiftung stets erhebliche Senkungen der Körpertemperatur und die charakteristische Schnappatmung vor Eintritt des Todes, während Krämpfe durchaus nicht obligatorisch auftraten. Etwa gleichzeitig mit dem Beginn der Schnappatmung zeigte sich häufig Austritt schaumigen, gelegentlich bluthaltigen Exsudates aus der Nase. Diese klinischen Zeichen des *beginnenden* Lungenödems standen in Übereinstimmung mit dem Aussehen der Lunge, die in diesem fortgeschrittenen Vergiftungsstadium stets die aus dem Schrifttum bekannten Veränderungen[12], angefangen von vermehrter Blutfülle und teilweiser Erfüllung der Alveolarräume mit Exsudat bis zur vollständigen Hepatisierung, aufwies.

Tabelle 2. *CO_2-Druck im Gewebe bei O_2-Vergiftung mit 5 ata.*

Tier Nr.	Zeit bis Entnahme Min.	pCO_2 mm Hg	Alkalireserve Vol.-%
40	100	136	61
43	140	169	45
56	135	241	52,5
57	244	368	56,5
59	247	226	58,0
86	120	71	45,5
Mittel:	*164 Min.*	*201 mm.*	

Bei einer weiteren Reihe von Tieren, die unter gleichen Umständen vergiftet waren, untersuchten wir nun den CO_2-Druck im Gewebe, und zwar entnahmen wir die Proben stets bei Beginn schnappender Atmung. Die Resultate sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Es zeigt sich also in der Tat, daß bei Beginn der schweren Vergiftungserscheinungen Kohlensäuredrucke auftreten, die sich in der Größenordnung der von Campbell gefundenen und neuerdings durch Pichotka und Becker-Freyseng[26] bestätigten hohen Werte bewegen. Darüber hinaus konnten wir bei unserem Vorgehen die Alkalireserve in der Peritoneal-Flüssigkeit bestimmen, die bei diesen Tieren merkwürdigerweise keine Erhöhung zeigt. Es muß also bei ihnen eine erhebliche p_H-Verschiebung nach der sauren Seite vorliegen.

Es war nun wichtig festzustellen, ob diese hohen CO_2-Drucke ausreichen, um für sich allein den Tod der Tiere herbeizuführen. Als niedrigste noch tödliche Konzentration von Kohlensäure in Luft gelten Werte von etwa 30%, entsprechend etwa 228 mm Hg.

Tabelle 3. *CO_2-Druck im Gewebe bei exogener CO_2-Vergiftung.*

Tier Nr.	Einwirkungsdauer in Min.	% CO_2	pCO_2 in Atemluft mm Hg	pCO im Gewebe mm Hg	Alkalireserve Vol.-%	Bemerkungen
54	80	32	234	320	67,2	Seitenlage
55	60	32	227	196	62,0	Seitenlage
51	63	36	258	228	66,6	keine Seitenlage
60	73	40	281	225	67,6	Seitenlage
65	107	51	372	366	67,3	Lungenödem
66	122	51	372	229	62,8	Lungenödem
75	70	50	361	254	31,0	tot in Lungenödem

Mittel: *262*

In der Tat bestätigt sich die Angabe von Campbell[11] (s. Tabelle 3), daß *im Endzustand der reinen Kohlensäurevergiftung CO_2-Drucke im Gewebe auftreten, die der Größenordnung nach mit den bei der O_2-Vergiftung gemessenen vergleichbar* sind. Zum klinischen Vergiftungsbild ist zu bemerken, daß sich beim plötzlichen Einbringen der Tiere in Konzentrationen von 30—50% nach einem Stadium beschleunigter und vertiefter Atmung sehr bald ein narkotisches Stadium anschloß, in dem die Tiere, wenn bis zum Tode gewartet wurde, unter Schnappatmung an Lungenödem starben. Bemerkenswert ist, daß sich die tief komatösen Tiere, soweit sie *vor Eintritt des Lungenödems an die Zimmerluft gebracht wurden, in wenigen Minuten erholten und überlebten.* Dies war bei der O_2-Vergiftung niemals der Fall, vielmehr gingen hierbei die Tiere, die in vergleichbarem Zustand aus der Druckkammer ausgeschleußt wurden, stets nach einigen Stunden oder am folgenden Tage ein, auch wenn sie sich — häufig unter den Zeichen zentraler Erregung (Streckkrämpfe, Opisthotonus und Gleichgewichtsstörungen) — vorübergehend erholt hatten. Wie früher schon von anderen[15] betont worden war, ist also *die einmal gesetzte Schädigung bei der O_2-Vergiftung im Gegensatz mindestens zur akuten Kohlensäurevergiftung nicht mehr reversibel.*

Da dieser Unterschied auch für die Versuche gilt, bei denen der Tod innerhalb vergleichbarer Zeit eintrat, scheint er uns dafür zu sprechen, daß *der Anteil der Sauerstoffkomponente am Vergiftungsbild bei der Hochdruckvergiftung hinter den rasch einsetzenden Symptomen der Kohlensäurestauung zurückbleibt* und offensichtlich eine gewisse Zeit bis zur vollen Entwicklung benötigt. Wir werden die Umstände, die uns zu dieser Auffassung führen, bei der Besprechung der Versuche mit 1 ata O_2 noch näher ausführen.

Hat also der Vergleich zwischen den Gewebsdrucken der CO_2 bei der Sauerstoff-Überdruckvergiftung einerseits und der akuten CO_2-Vergiftung andererseits tatsächlich für eine überragende Bedeutung der Kohlensäurestauung als Todesursache gesprochen, so weisen in die gleiche Richtung auch jene Versuche, bei denen wir den Basenbestand der Tiere durch Zufuhr von MgO künstlich erhöhten.

Bei diesen Versuchen führten wir nüchternen Tieren eine Aufschwemmung von 0,5 g MgO 2 Stunden vor Versuchsbeginn durch Schlundsonde zu. In Vorversuchen hatten wir uns überzeugt, daß entgegen gewissen Angaben in der Literatur[16, 17] auch längeres *Hungern der Tiere keinen Einfluß auf die Überlebenszeit* in Überdruck-O_2 hatte. Ist die Kohlensäure bei der Sauerstoffvergiftung der lebenbegrenzende Faktor, so muß Bindung der entstehenden freien CO_2 den Eintritt des Todes hinausschieben.

Tabelle 4. *Überlebenszeiten von Meerschweinchen in 5 ata O_2 nach Zufuhr von MgO.*

Tier Nr.	Gewicht g	Rektal-Temperatur C°	Harn-pH nach Versuch	Überlebenszeit in Min.	Aussehen der Lunge
68	340	28	7,5	462	hepatisiert
76	310	31	7,5	660	—
77	270	32	7,8	688	geringe Veränderung
82	300	36	7,0	482	starke Blutfülle
84	320	29	7,0	352	—
86	280	32	6,0	660	stärkere Blutfülle
87	310	28	8,0	660	geringere Veränderung
88	320	32	6,5	578	hepatisiert
89	310	29	7,0	524	starke Blutfülle
91	270	30	7,8	620	—
92	240	28	7,5	703	geringe Veränderung
			Mittel:	*582*	

Wie aus Tabelle 4 ersichtlich ist, bringt *exogene Basenzufuhr wirklich eine bedeutende Lebensverlängerung zustande*. Gegenüber der mittleren Überlebenszeit normaler Tiere von 4 Stunden zeigen die mit MgO vorbehandelten Meerschweinchen eine durchschnittliche Überlebenszeit von fast 10 Stunden! Der Vergiftungsverlauf war demgemäß zeitlich in die Länge gezogen, und zwar dadurch, daß die Tiere zuletzt stundenlang in Seitenlage bei äußerst oberflächlicher und überaus stark verlangsamter Atmung dahinsiechten. Dieser Zustand war so ausgeprägt, daß wir die Tiere oft schon für tot hielten, bis endlich der nächste fast unmerkliche Atemzug erfolgte. Gerade ein solcher Zustand wird von Pichotka[18] bei Meerschweinchen beschrieben, die in langfristigen Versuchen mit sogar nur 15% CO_2 zu Tode kamen. Autoptisch fanden wir auch bei den CO_2-Tieren die Lunge geschädigt, wenn wir auch (makroskopisch) den Eindruck hatten, daß die Schädigung hier im allgemeinen etwas geringere Grade aufwies als bei der O_2-Vergiftung.

Im Gegensatz zu den unvorbehandelten O_2-Tieren, bei denen der Harn am Ende der Vergiftung meist eine Säuerung aufweist, ist diese bei den MgO-Tieren weniger ausgesprochen. Trotz der langen Versuchsdauer, die zur Ausscheidung reichlicher Mengen von CO_2 Gelegenheit gibt, ist also die alkalisierende Wirkung des MgO erkennbar; das zugeführte Alkali hatte also erwartungsgemäß einen erheblichen Teil der harnpflichtigen CO_2 gebunden. Es war nun erst recht von Interesse, festzustellen, wie weit die Alkalizufuhr auch die Spannung der Gewebskohlensäure herabsetzen konnte, bzw. wie hoch hier die vor dem Tode auftretenden Drucke sind.

Tabelle 5 gibt darüber Auskunft. Es handelt sich um Tiere, die mit einer Ausnahme bereits in Tabelle 4 aufgeführt wurden.

Tabelle 5. *CO_2-Druck im Gewebe bei O_2-Vergiftung und MgO-Vorbehandlung.*

Tier Nr.	Überlebenszeit in Min.	Alkalireserve Vol.-%	pCO_2 im Gewebe mm Hg
68	462	75,0	191
82	482	70,6	142
84	352	72,5	137
85	650	72,3	135
87	660	85,0	128
88	578	72,3	135
89	524	75,7	154
92	703	77,0	122
	Mittel: *552*	*75,0*	*143*

Aus der Zusammenstellung geht mit wünschenswerter Deutlichkeit hervor, daß der CO_2-Druck, der kurz vor dem Tode bei den MgO-behandelten Tieren herrscht, bedeutend niedriger ist als bei unvorbehandelten, durch Überdruck-Sauerstoff vergifteten Tieren. Während er bei letzteren im Mittel 201 mm betrug, kommt er nach MgO-Zufuhr im Mittel nur auf 143 mm, obwohl die Entnahme hier durchschnittlich 5 Stunden später erfolgt war. Bestimmt man die CO_2-Spannung aber entsprechend der kürzeren Überlebenszeit unvorbehandelter Tiere auch bei den MgO-Tieren nach 4 Stunden, so sind hier die CO_2-Spannungen, wie wir in einigen Versuchen fanden, nicht nur nicht erhöht, sondern meist unternormal (35—50 mm CO_2), obwohl zu diesem Zeitpunkt schon deutliche Vergiftungserscheinungen auftreten. Wir sehen also, daß *Alkalizufuhr das Leben in Überdrucksauerstoff verlängert; indem sie den Anstieg des Kohlensäurespiegels im Gewebe verlangsamt.*

Wir hatten eingangs die vereinfachende Forderung aufgestellt, daß der Tod stets bei denselben CO_2-Drucken eintreten müßte, wenn die CO_2-Anhäufung alleinige Todesursache ist. Dabei war allerdings nicht berücksichtigt, daß — mindestens bis zu einem gewissen Grade — auch die Kohlensäurevergiftung einem $c \cdot t$-Gesetz gehorcht, wie es aus den Versuchen von Pichotka hervorgeht. Wenn also die alkalivorbehandelten Tiere schon bei geringeren CO_2-Spannungen eingehen, so ist dies für sich noch kein Gegenbeweis gegen die alleinige Bedeutung der Kohlensäure als Todesursache. Später werden wir freilich sehen, daß

noch mehr Grund besteht, die Differenz in den prämortalen CO_2-Drucken auf einen Zeitfaktor in der Entwicklung der O_2-Schädigung zurückzuführen: Indem nämlich Alkalizufuhr einerseits das Auftreten kritischer CO_2-Spannungen verzögert, schafft sie andererseits die Voraussetzung für die Entwicklung der zeitbeanspruchenden Sauerstoffschädigungen. Ist dieser Gedankengang richtig, dann müßte die eigentliche O_2-Vergiftung erst nach Ausschaltung der Kohlensäurekomponente rein zum Ausdruck gelangen.

2. Versuche mit 1 ata Sauerstoff.

Diese Forderung ist praktisch verwirklicht bei der subakuten Sauerstoffvergiftung mit einer Atmosphäre (1 ata), denn unter diesen Bedingungen ist jedenfalls so reichlich reduziertes Hämoglobin vorhanden, daß von einer Erschwerung des CO_2-Abtransportes noch nicht die Rede sein kann. Da die von der Campbellschen Theorie beanspruchten Voraussetzungen unter diesen Umständen also nicht gegeben sind, so dürfte theoretisch der CO_2-Druck im Gewebe auch nicht ansteigen, wie dies Campbell[19] im Widerspruch mit den von Heck und Loeschke[20] im arteriellen Blut gewonnenen Befunden angibt. Deshalb haben wir in einigen Fällen den CO_2-Druck in verschiedenen Stadien auch der chronischen O_2-Vergiftung bestimmt. Die Werte sprechen eine so deutliche Sprache, daß wir uns mit wenigen Versuchen begnügen konnten. In Vorversuchen zeigte sich, daß die Vergiftung bei 1 ata innerhalb etwa 5—6 Tagen zum Tode der Tiere führte. Auch unter diesen Verhältnissen war also die Überlebenszeit unserer Tiere etwas länger als in der Literatur angegeben. Dementsprechend traten makroskopisch auffällige Lungenveränderungen bei unseren Versuchen gleichfalls erst etwas später auf, nämlich etwa vom 2. Tage ab, während Pichotka[12] sowie Becker-Freyseng[13], deren Tiere durchschnittlich schon nach 3 Tagen starben, Veränderungen der Lunge bereits nach 12 Stunden beschreiben.

Da uns die zeitliche Entwicklung des CO_2-Spiegels im Zusammenhang mit dem Zustand der Lunge interessierte, bestimmten wir die CO_2-Spannung nach verschieden langer Einwirkungszeit, angefangen vom 1. bis zum 6. Tage. Interessehalber bestimmten wir bei den beiden letzten Tieren die CO_2-Spannung und Alkalireserve außerdem auch im Blut, das wir durch Herzpunktion aus der linken Kammer entnahmen. Tabelle 6 zeigt die gefundenen CO_2-Spannungen.

Als wichtigstes Ergebnis geht daraus hervor, daß *im Endstadium der Vergiftung auch hier hohe und höchste CO_2-Spannungen im Gewebe und Blut auftreten, obwohl der Abtransport seitens des Blutes nicht gestört sein kann.* Der zweite beachtliche Umstand liegt darin, daß die Retention der CO_2 *in dem Zeitpunkt bemerklich wird, wo auch klinische Vergiftungserscheinungen, in erster Linie von Seiten der Lunge, auftreten.*

Tabelle 6. *Verhalten der CO_2-Spannung im Gewebe bei chronischer Vergiftung mit Sauerstoff von 1 ata.*

Tier Nr.	Versuchstag	CO_2 im Gewebe mm	CO_2 im Blut mm	Alkalireserve Gewebe Vol.-%	Alkalireserve Blut Vol.-%	Symptome
71	1.	51,2	—	48,0	—	Tier munter, frißt
72	2.	47,0	—	52,0	—	keine Freßlust
73	3.	79,8	—	53,6	—	Schlafstellung, Lunge blutgefüllt
69	4.	80,0	—	45,5	—	beginnende Atemnot, Lunge blutgefüllt
70	5.	256,0	258,0	55,5	55,5	dyspnoisch, Lungenödem
78	6.	340,0	322,5	56,7	58,6	Seitenlage, Schnappatmung, Lunge hepatisiert.

Da gleichzeitig auch die CO_2-Spannung im arteriellen Blut sehr hoch ist, während die alveolare CO_2-Spannung nach den übereinstimmenden Angaben des Schrifttums bei der Sauerstoffvergiftung erniedrigt ist [21, 22, 23], so *kann unseres Erachtens die Retention der Kohlensäure nur auf eine Diffusionsbehinderung in der Lunge zurückgeführt werden.* Damit stimmt auch überein, daß der Tod an Sauerstoffvergiftung nach vielfachen Angaben schließlich unter dem Bilde des Sauerstoffmangels bzw. der Erstickung eintritt [24, 25] und daß sich autoptisch Leberschädigungen zeigen, die von den Pathologen als charakteristisch für Hypoxämie angesehen werden [12].

Nachdem also feststeht, daß es auch bei chronischer Vergiftung mit O_2 von 1 ata zu ganz erheblichem Anstieg der Kohlensäure kommt, der keinesfalls durch eine Stauung an der Grenze Gewebe/Blut zu erklären ist, so scheint damit das Wesen der chronischen Sauerstoffvergiftung dahingehend geklärt, daß der O_2 *primär die Lunge schädigt, und zuletzt dann der Tod als Folge dieser Diffusionsbehinderung eintritt.* Mittelbare Ursache des Todes wäre somit bei der akuten Vergiftung mit hohen Drucken die Erreichung tödlicher CO_2-Spannungen, wozu bei der chronischen Vergiftung mit 1 ata noch Hypoxämie durch Behinderung auch des O_2-Übertritts erschwerend hinzutreten mag. Der Faktor der Hypoxie sollte aber nur sehr vorsichtig veranschlagt werden, da gerade bei so hoher CO_2-Spannung auch noch niedrigste Sauerstoffsättigungen einen genügenden O_2-Druck aufrechterhalten können (Bohreffekt).

Während nun die vorgetragene Auffassung über die Rolle der Kohlensäure als Todesursache auch von den neueren Autoren geteilt wird, so daß dieser Punkt heute geklärt erscheint, verhalten sie sich andererseits sehr zurückhaltend, was die Rolle des Sauerstoffs für die Entstehung der Lungenschädigung betrifft. So scheint es ihnen [12, 13] insbesondere

noch nicht ausgemacht, daß tatsächlich der O_2 für diese verantwortlich ist, um so mehr, als sie bei ihren Versuchstieren auch durch Kohlensäure allein die gleichen klinischen und histologischen Veränderungen erzielen konnten, wie sie sie bei der Sauerstoffvergiftung finden. Dies legt in der Tat die Frage nahe, ob die Kohlensäure nicht auch für die primären Lungenveränderungen verantwortlich ist. Nach dieser Auffassung würde sich also die CO_2 gewissermaßen selbst den Ausweg versperren, nachdem sie einmal infolge des Campbell-Effektes angestiegen ist. Ja, es wird eine solche primäre Lungenschädigung durch CO_2 sogar bei der Sauerstoffvergiftung mit 1 ata für möglich gehalten, nachdem neuerdings wieder gefunden wurde[13], daß auch hierbei schon sehr bald eine geringfügige Erhöhung der CO_2-Spannung um etwa 15 mm auftritt. Auch diese geringe Erhöhung des CO_2-Spiegels soll nach Annahme der Autoren bereits eine Auswirkung des Campbell-Effektes sein.

Uns scheint jedoch schon eine einfache Überlegung die Unwahrscheinlichkeit einer solchen Annahme zu ergeben, insofern die exogene CO_2-Vergiftung hinsichtlich der Verhältnisse in der Lunge gerade das Spiegelbild der bei der O_2-Vergiftung vorliegenden Kohlensäurestauung darstellt, welche bekanntlich mit einer *Verminderung* der alveolären CO_2-Spannung (s. oben) einhergeht. Wenn also von den Pathologen auf die bemerkenswerte Beobachtung hingewiesen wird, daß sowohl bei der O_2- als auch der CO_2-Vergiftung als erstes eine Schädigung der in den Alveolarraum vorspringenden konvexen Kapillarbögen auftritt, so liegt es unseres Erachtens auf der Hand, daß dieses gemeinsame Merkmal auch auf dem gemeinsamen Faktor eines erhöhten Partialdruckes der schädigenden Gase beruht. Bei der Sauerstoffvergiftung ist aber, wie gesagt, die alveoläre CO_2-Spannung gerade herabgesetzt, so daß die Voraussetzung zu einer Schädigung der Kapillarschlingen nur für den Sauerstoff erfüllt ist. Auch wenn man einwenden wollte, daß die Kapillaren ihrerseits einen Bestandteil des Gewebes bilden, in welchem sich die CO_2 anhäuft, so bliebe es doch immer unverständlich, daß die erste Schädigung dort auftreten sollte, wo die CO_2-Spannung unbedingt am niedrigsten sein muß!

Den eindeutigen Beweis gegen eine primäre Rolle der CO_2 für die Lungenschädigung erblicken wir jedoch in jenen Versuchen mit MgO-Zufuhr, bei denen die endogene CO_2 mehr oder weniger abgefangen wurde; unter 5 ata O_2 kam es *auch hier zu der charakteristischen Lungenschädigung, obwohl zu diesem Zeitpunkt (4 Stunden) die CO_2-Spannung im Gewebe normal (50 mm) oder sogar erniedrigt (35 mm) war!* Letzten Endes erscheint es aber auch vom allgemein-biologischen Standpunkt aus unwahrscheinlich, daß der Organismus so leicht zu gefährden sein sollte durch Konzentrationsänderungen eines Gases, wie sie schon normalerweise leicht auftreten, eines Gases, dessen sich der Organismus

als Regulator so vielfach bedient. Wäre diese hohe Empfindlichkeit gegen die Kohlensäure wirklich vorhanden, so müßte sie sich erst nach der Karbonzeit entwickelt haben, während deren die Atmosphäre bekanntlich noch einen annähernd 100mal so hohen CO_2-Gehalt aufwies. In der Tat wären dann auch die allbekannten therapeutischen Erfolge nicht verständlich, die heute durch CO_2-Atmung in jeder Klinik erzielt werden: verwendet man doch nach dem Vorgang von HENDERSON mit Erfolg Zusätze von 6—7% CO_2 gerade zur Prophylaxe und Therapie von Pneumonien und Atelektasen.

Sehen wir also, daß die für eine primäre CO_2-Schädigung der Lunge anführbaren Argumente leicht entkräftet werden konnten, so sind umgekehrt alle gegen eine primäre CO_2-Schädigung sprechenden Befunde Beweis für eine solche Rolle des Sauerstoffs. Dazu kommt aber nun, daß es bei der O_2-Vergiftung auch Veränderungen gibt, welche nur auf den Sauerstoff bezogen werden können, wie die von PICHOTKA[2, 12] beschriebene Vakuolisierung und Verfettung in der Umgebung des peripheren Gefäßbündels der Leberläppchen, d. h. also wiederum an Orten, die vom Sauerstoffstrom zuerst umspült werden. Wird dies für die Leber grundsätzlich zugestanden, so muß es erst recht für die Lunge gelten, welche dem größten Sauerstoffdruck ausgesetzt ist. Bei aller Würdigung jener Befunde, die zwanglos auf die CO_2-Stauung bezogen werden können, darf eben doch nicht vergessen werden, daß der hochgespannte Sauerstoff ein Protoplasmagift ist, wie dies schon die Schädigung hämoglobinfreier Lebewesen erkennen läßt. Daß schließlich der Sauerstoff nicht nur eine Vergiftungsbedingung im Sinne der CAMPBELL-Theorie darstellt, sondern auch direkte Schädigungen setzt, geht hervor aus dem Verlauf der von HEDERER-ANDRÉ[17] sowie PICHOTKA[12] ermittelten Konzentrations-Wirkungskurve der Sauerstoffvergiftung. Diese bringt nämlich die Tatsache zum Ausdruck, daß die Lebenszeiten mit steigendem Sauerstoffdruck immer weiter abnehmen, obwohl sie bei Gültigkeit der CAMPBELL-Theorie oberhalb 4 ata nicht mehr Funktion des Druckes sein dürften. Denn dies ist etwa der Punkt, wo alles Hämoglobin als Oxy-Hämoglobin vorliegt und wo somit der chemische CO_2-Transport bereits maximal gehemmt sein sollte.

Am Schluß unserer Ausführungen bleiben noch Versuche zu besprechen, die wir mit Ansäuerung der Tiere anstellten. Sie sollten, wie in der Einleitung erwähnt, das Gegenstück zu den MgO-Versuchen darstellen. Dementsprechend erwarteten wir als Wirkung der Säurezufuhr einen rascheren Anstieg der CO_2-Spannung, der sich in einer Verkürzung der Lebenszeiten unter Sauerstoff ausdrücken mußte. Zur Ansäuerung wurde, wie eingangs beschrieben, Ammoniumchlorid in hohen Dosen verwendet. Die angewandte Dosis steigerte, wie wir uns vor Anstellung der eigentlichen O_2-Versuche überzeugten, den CO_2-Druck innerhalb

2 Stunden von durchschnittlich 55 mm bis auf im Mittel 90 mm Hg. Die Alkalireserve sank dabei bis auf durchschnittlich 26 Vol.-% CO_2 (3 Tiere). Eine Stunde nach Zufuhr des Ammoniumchlorids wurde mit der O_2-Vergiftung begonnen. Ebenso wie bei den MgO-Versuchen wurden auch diese mit 5 ata O_2 durchgeführt.

Tabelle 7. *Überlebenszeiten von Meerschweinchen in 5 ata O_2 nach Zufuhr von NH_4Cl.*

Tier Nr.	Gewicht g	Überlebenszeit in Min.	pCO_2 im Gewebe mm Hg	Alkalireserve Gewebe Vol.-%	Bemerkungen
11	180	510	—	—	
12	180	550	—	—	
13	215	595	—	—	
20	270	430	—	—	
21	220	320	—	—	
22	210	347	—	—	
34	215	240	—	—	
35	250	220	—	—	
36	325	390	—	—	
46	275	455	—	—	
47	270	230	270	34,0	Lunge total hepatisiert
52	330	250	—	—	
79	360	360	176	46,6	Lunge nicht geschädigt
80	255	240	133	53,3	Lunge völlig in Ordnung
83	350	335	183	47,0	Lunge wenig verändert
90	310	183	152	30,6	Lunge geschädigt
		Mittel: *351*			

Wie Tabelle 7 zeigt, fiel das Ergebnis dieser Versuche keineswegs erwartungsgemäß aus. Statt einer Verkürzung der Überlebenszeiten bewirkte das Ammoniumchlorid im Gegenteil eine deutliche Verlängerung im Mittel auf 351 Min. gegenüber 240 Min. bei unvorbehandelten Tieren. Noch erstaunlicher war aber die Tatsache, daß die vor dem Tode gemessene CO_2-Spannung trotz längeren Überlebens der Tiere in 4 von 5 Fällen sogar niedriger ist als bei nicht vorbehandelten Tieren, wo sie im Mittel 200 mm betrug.

Ein Anhaltspunkt für die Erklärung dieser merkwürdigen Tatsache ergibt sich vielleicht aus dem Lungenbefund bei diesen Tieren: Mit Ausnahme von Tier Nr. 47, bei dem die Lunge schwer geschädigt und der CO_2-Druck hoch lag, waren die Lungen bei den anderen Tieren weniger stark geschädigt als bei den Kontrolltieren der Tabelle 1. Es liegt deshalb nahe anzunehmen, daß das Ammoniumchlorid hier irgendwie die Schädigung der Lunge hintangehalten hat, so daß sich trotz des an sich schon durch Ammoniumchlorid selbst gesteigerten CO_2-Druckes keine so hochgradige Diffusionsbehinderung entwickeln konnte wie sonst.

In der Vermutung, daß es sich hier um eine pharmakologische Wirkung ähnlich der bekannten sekretolytischen Wirkung des Ammonium-Ions handeln konnte, stellten wir einige Vergleichsversuche mit Ammoniumazetat an, die jedoch normale Überlebenszeiten erbrachten. Man könnte daher die lebensverlängernde Wirkung des Ammoniumchlorids bzw. die niedrige Lage des CO_2-Spiegels auch anders zu deuten versuchen und sie im Sinne von Campbell auf die durch die Säuerung bewirkte Stoffwechselsenkung, d. h. die Einschränkung der CO_2-Produktion beziehen. Wie dem jedenfalls auch sei, es führten uns die merkwürdigen Ergebnisse der NH_4Cl-Versuche in der Lösung unserer Fragestellung nicht weiter, weshalb wir sie hier auch nur anhangsweise behandelt haben.

Zusammenfassung.

In Übereinstimmung mit Campbell und anderen Autoren wurden bei der O_2-Vergiftung mit mehr als 3,5 ata CO_2-Drucke von über 200 mm Hg im Gewebe gefunden. Diese CO_2-Stauung, die wir mittels einer neuen Methode nachwiesen, ist mit Campbell hauptsächlich auf die Behinderung des CO_2-Abtransportes infolge Mangel an reduziertem Hämoglobin (bzw. Beschlagnahme des Alkali durch das Oxy-Hb.) zurückzuführen.

Dieses Erklärungsprinzip entfällt jedoch unseres Erachtens bei der langsam verlaufenden Sauerstoffvergiftung mit 1 ata, bei der wir in den Endstadien gleichfalls eine starke Kohlensäurestauung fanden. Dieser CO_2-Retention bei 1 ata muß deshalb eine andere Entstehungsursache zugrunde liegen.

Ein Hinweis auf sie ergibt sich schon aus dem Umstand, daß unter diesen Versuchsbedingungen Lungenschädigungen bereits auftreten, wenn die CO_2-Spannung noch nicht angestiegen ist, und daß andererseits der Beginn des CO_2-Anstiegs stets erst nach Eintritt der Lungenschädigung einsetzt. Aber selbst unter hohen O_2-Drucken konnten wir den gleichen Sachverhalt nachweisen, wenn durch Alkalisierung der Tiere der Anstieg der Kohlensäure verhindert wurde: die Lungenschädigungen, die in diesen beiden Extremfällen noch vor dem Anstieg der CO_2 auftreten, können daher nur als unmittelbare Wirkung des O_2 aufgefaßt werden.

Da diese *primäre* Schädigung durch den Sauerstoff aber Zeit zu ihrer Entwicklung braucht, wird sie unter hohen O_2-Drucken durch die rascher verlaufende CO_2-Wirkung überdeckt. Dagegen kommt bei 1 ata die Sauerstoffschädigung insbesondere der Lunge rein zum Ausdruck: Es entwickelt sich eine Diffusionsbehinderung, derzufolge es *sekundär* nun auch hier zu einer CO_2-Stauung von toxischem Ausmaß kommt.

Trotz der verschiedenen Entstehungsweise der CO_2-Stauung erfolgt also der *Tod* sowohl unter hohen wie niedrigen Sauerstoffdrucken zuletzt gleicherweise durch CO_2-Vergiftung. Diese Auffassung wird erhärtet durch Versuche, in denen die Überlebenszeit von Meerschweinchen in 5 ata O_2 durch vorangehende Alkalizufuhr bzw. Verlangsamung des CO_2-Anstieges um mehr als das Doppelte verlängert werden konnte.

Literatur.

[1] Liebegott, G.: Beitr. path. Anat. **105**, 413 (1941). — [2] Pichotka, J.: Beitr. path. Anat. **105**, 381 (1941). — [3] Clamann, Becker-Freyseng u. Liebegott: Luftf.med. **5**, H. 17 (1940). — [4] Bert, P.: La pression barometrique. 1878. — [5] Engelmann: Bot. Ztg **1882**, 320. — [6] Cleveland, L. R.: Biol. bull. **48** (1925). — [7] Massart: Arch. internat. Pharmacodynam. **53**, 562 (1936). — [8] Lehmann: Skand. Arch. Physiol. (D.) **72**, 78 (1935). — [9] Orzechowski u. Holste: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 189 (1938). — [10] Seelkopf, K.: Luftf.med. **9**, 57 (1944). — [11] Campbell: J. Physiol. (Brit.) **68**, 7 P (1929/30). — [12] Pichotka: Vortr. med. Ges. Freiburg 11. Juli 1944. — [13] Becker-Freyseng: Habil. schr. Freiburg 1944. — [14] Campbell: J. Physiol. (Brit.) **90**, 91 P (1937). — [15] Becker-Freyseng: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1940**, 83. — [16] Almeida: C. r. Soc. Biol. **116**, 1225 (1934). — [17] Hederer et André: Bull. Acad. Méd., Par. III, **123**, 294 (1940). — [18] Pichotka: Persönliche Mitteilung. — [19] Campbell: J. Physiol. (Brit.) **60**, 20 (1925). — [20] Heck u. Löschke: Luftf.med. **6**, 114 (1942). — [21] Heck: Luftf.med. **6**, 105 (1942). — [22] Clamann u. Becker-Freyseng: Luftf.med. **4**, 1 (1939). — [23] Dautrebande u. J. S.: Haldane J. Physiol. (Brit.) **55**, 296 (1921). — [24] Binger, Faulkner and Moore: J. exper. Med. **45**, 849 (1927). — [25] Paine, Keysand and Lynn: Amer. J. Physiol. **133**, 406 P (1941). — [26] Becker-Freyseng u. Pichotka: Klin. Wschr. **1944**.

Aus dem pharmakologischen Labor der Höchster Farbwerke und dem pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck.

Über die Beeinflussung der Wirkung von Oxytocin und Vasopressin auf die Salzdiurese durch Salyrgan *.

Von

O. Schaumann und Lisbeth Schmidt †.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Anlaß zu den hier mitgeteilten Versuchen gaben einerseits Beobachtungen von H. Curschmann[1] und K. H. Riwoldt[2] über eine eigentümliche zweiphasische Wirkung des Präphyson auf den Wasserhaushalt, als deren Ursache die Autoren einen diuresefördernden Wirkstoff des Hypophysen-Vorderlappens annahmen, andererseits die Mitteilung von Köhler und Jenninger[3], daß die Salyrgandiurese durch Präphysongaben wesentlich verstärkt werden kann. Auch diese Autoren sahen darin eine weitere Stütze für die wiederholt aufgestellte Behauptung[4–7], daß im Vorderlappen der Hypophyse ein spezifisch diuresefördernder Wirkstoff enthalten sei.

Die von Curschmann und Riwoldt veröffentlichten Diuresekurven mit primärer Diuresehemmung und erst nach 3—4 Stunden einsetzender kompensatorischer Diuresesteigerung gleichen nun völlig der bekannten wassereinsparenden Wirkung von Hypophysen-Hinterlappen-Extrakten. Außerdem ergaben eigene diesbezügliche Versuche, die inzwischen durch eine Arbeit von Hotovy[8] bestätigt wurden, daß wäßrige, schwach saure Kochextrakte auch aus sorgfältig vom Hinterlappen abgetrennten schlachtfrischen Vorderlappen Wirkstoffe des Hinterlappens in nicht zu vernachlässigender Menge enthalten. Eine diesbezügliche Prüfung ergab ferner, daß auch im Präphyson je ccm 0,3—0,6 E Oxytocin und Vasopressin enthalten sind.

Deshalb sollte nachgeprüft werden, ob nicht auch durch die Wirkstoffe des Hinterlappens allein eine synergistische Beeinflussung der Salyrganwirkung zu erzielen wäre. Vor allem sollte auch das Oxytocin in die Versuche einbezogen werden, da dieses nach Draper[9], Fraser[10], sowie Kuschinsky und Bundschuh[11] an Ratten eine Vermehrung der Chlorid- und Wasserausscheidung auszulösen vermag. Diese Beobachtung konnte in eigenen Versuchen[12] bestätigt und dahin erweitert werden,

* Herrn Prof. W. Heubner zum 70. Geburtstag.

daß durch Oxytocin die Ausscheidung der Na-Ionen in noch weit stärkerem Maße gefördert wird als die der Cl-Ionen, während durch Vasopressin (Tonephin) eine deutliche Verminderung der Na-Ausscheidung bei Vermehrung der Abgabe von Cl und K bewirkt wird. Deshalb wurde in den vorliegenden Versuchen neben der Cl- auch die Na-Ausscheidung im Harn verfolgt.

Die Versuche ergaben, daß tatsächlich nicht nur zwischen Salyrgan und Präphyson, sondern in gleichem Maße auch zwischen Salyrgan und Oxytocin in einer Dosierung, wie sie dem Gehalt des Präphyson an Hinterlappenwirkstoffen entspricht, ein über eine einfache Addition hinausgehender Synergismus auf die Na- und Cl-Ausscheidung besteht.

Versuche.

Als Versuchstiere dienten weiße Rattenböcke im Gewicht von 150—200 g, Die Fütterung bestand während der ganzen Versuchsdauer aus Körnerfutter und Wasser ad libitum, war also arm an Na und Cl. Die Tiere wurden in gleich behandelten Gruppen zu je 6 zusammengefaßt und während der auf 6 Stunden bemessenen Versuchsdauer in gläsernen Stoffwechselkäfigen gehalten. Der Harn wurde in angeschliffenen Sammelgefäßen aufgefangen. Seine Menge wurde zur Verfolgung der Diuresekurve nach Burn[13] halbstündig gemessen. In den vereinigten Portionen jeder Gruppe wurden Cl nach Volhard und Na mit Zink-Uranyl-Azetat bestimmt. Zu Beginn des Versuches erhielt jede Ratte 5 ccm Leitungswasser mit der Schlundsonde. Die sofort anschließenden Injektionen der Wirkstoffe erfolgte subkutan. Zur Vermeidung unspezifischer Reize[14] waren die Wirkstoffe auf 1 ccm mit 0,9%iger Kochsalzlösung verdünnt; die Kontrollen erhielten die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung allein. Die Tiere wurden 2mal wöchentlich in den Versuch genommen. Als Präparate wurden verwendet: Die handelsübliche 10%ige Salyrganlösung mit 5% Theophyllin, Tonephin, Hypophysin, Präphyson des Handels und ein besonders gereinigtes Orasthin mit nur 0,04 E Vasopressin auf 3 E Oxytocin. Die entsprechenden Verdünnungen wurden stets frisch unmittelbar vor dem Versuch angesetzt.

Die nebenstehende Tabelle gibt eine Übersicht über die gesamten Versuchsresultate. Zu den Angaben wäre folgendes zu bemerken:

Die Zahlen sind Mittelwerte aus sämtlichen Versuchen, berechnet auf eine Gruppe von je 6 Tieren. Die eingeklammerten Zahlen geben den tiefsten und höchsten beobachteten Wert wieder. Die Zahlen für Cl und Na sind die insgesamt nach 6 Stunden ausgeschiedenen Mengen in mg. Der Ausdruck „Zeit" bedeutet die Anzahl der Minuten, die bis zur Ausscheidung der Hälfte der gesamten Harnmenge verstrichen war. Die mit % bezeichneten Reihen geben die prozentualen Veränderungen der betreffenden Werte gegenüber denjenigen der Kontrollgruppen bzw. der Zufuhr an. Zu den einzelnen senkrechten Kolonnen ist zu sagen:

Zufuhr. Jedes Tier bekam 5 ccm Wasser p. o. und 1 ccm s. c. injiziert. Die zugeführten Cl- und Na-Mengen stammen aus der injizierten 0,9%igen NaCl-Lösung. Der Kochsalzgehalt des Futters sowie das Na der Salyrganlösung wurden dabei nicht berücksichtigt.

Kontrollen. Das zugeführte Wasser, Cl und Na wurden während der 6stündigen Versuchsdauer nicht vollständig ausgeschieden. Besonders das Na wurde zum größten Teil retiniert.

Tabelle 1.

	Zufuhr	Kontrolle	Salyrgan	Orasthin	Salyrgan + Orasthin	Tonephin	Tonephin + Salyrgan	Hypophysin	Salyrgan + Hypophysin	Salyrgan + Präphyson
Dosis . .	—	—	0,01 ccm	0,03 E		0,0004 E	—	0,03 E	—	—
ccm . .	36	24,9	20,6	24,0	26,9	15,3	17,7	20,0	28,2	28,8
	—	(12,0—36,6)	(15,8—28,9)	(15,6—29,2)	(16,9—33,7)	(12,3—18,2)	(16,3—19,1)	(19,6—20,4)	(20,5—40,4)	(23,6—32,0)
% . . .	—	*100*	*83*	*96,5*	*107*	*61,5*	*69,5*	*80,5*	*113*	*115,5*
	100	69	57	67	74	42,5	49	55,5	78	80
Cl mg. .	32,6	14,7	16,1	32,3	55,9	6,0	16,5	25,0	73,0	79,7
	—	(9,5—27,8)	(5,8—25,0)	(25,3—40,8)	(41,5—69,5)	(4,6—7,3)	(16,5—16,5)	(15,0—35,0)	(52,0—157,0)	(55,0—111,0)
% . . .	—	*100*	*110*	*220*	*380*	*41*	*118*	*170*	*500*	*531*
	100	45	49,5	99	170	18,5	50,5	77	225	245
Na mg .	21,4	3,5	4,4	10,3	30,4	1,8	5,2	2,2	39,9	51,6
	—	(0,6—10,0)	(0,0—14,5)	(8,0—14,6)	(20,8—45,2)	(1,1—2,4)	(4,8—5,5)	(0,0—4,4)	(22,0—90,0)	(29,0—63,0)
% . . .	—	*100*	*126*	*294*	*870*	*51,5*	*149*	*63*	*1130*	*1470*
	100	16,4	20,5	48	142	11,8	24	10,4	185	230
Zeit/Min.	—	67	60	87	84	103	93	200	240	200
	—	(37—98)	(51—62)	(76—103)	(49—105)	(87—120)	(71—114)	(195—206)	(195—265)	(167—226)
Tierzahl	—	84	36	18	42	12	12	12	30	30

Salyrgan: Die Dosis betrug hier, wie in allen späteren Kombinationsversuchen, 0,01 ccm Handelslösung entsprechend 1 mg Salyrgan und 0,5 mg Theophyllin. Einen besonders in die Augen springenden Einfluß hatte diese Salyrgangabe auf keinen der gemessenen Werte; die Diurese wurde etwas vermindert, die Cl- und Na-Ausscheidung geringgradig erhöht.

Orasthin: Die Dosierung betrug 0,03 E je Tier mit 0,0004 E Vasopressin. Die Harnmenge zeigte keine signifikante Änderung, dagegen wurde die Cl-Ausscheidung verdoppelt, die Na-Ausscheidung sogar verdreifacht. Die Verzögerung

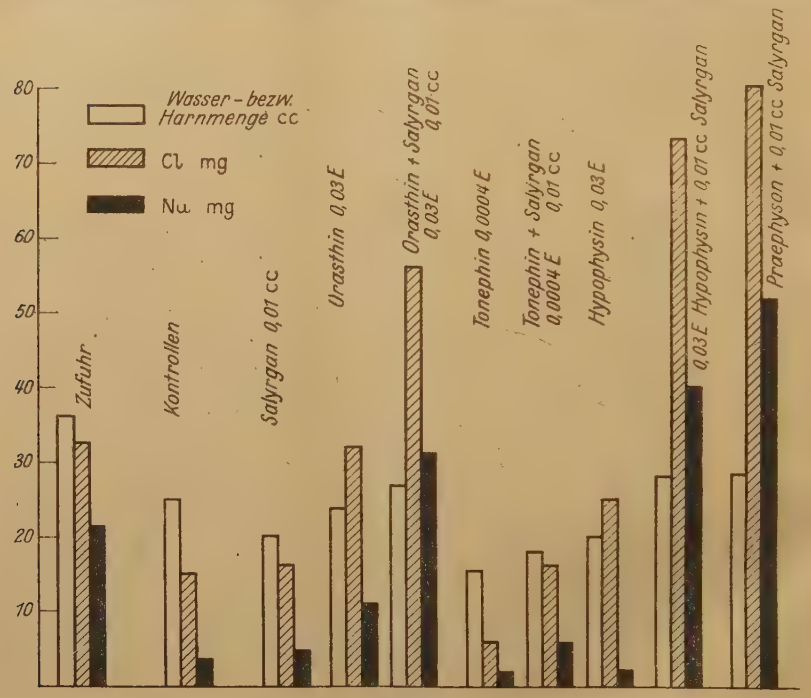


Abb. 1.

der Diurese entsprach etwa der Menge des noch beigemengten Vasopressin, wie ein Vergleich mit den Tonephinversuchen der übernächsten Kolonne zeigt.

Salyrgan + Orasthin: Die Dosierung bestand in einer Kombination der in den Versuchen der beiden vorhergehenden Kolonnen gegebenen Mengen in dem gleichen Volumen von 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Die Harnmenge steigt auch in diesen Versuchen nur unbedeutend an. Dagegen schnellt die Cl- bzw. Na-Ausscheidung auf das nahezu Vierfache bzw. Neunfache gegenüber den Kontrollen hinauf. Die geringgradige bereits unter alleiniger Orasthingabe eingetretene Verzögerung der Diurese wird durch das Salyrgan nicht wesentlich beeinflußt.

Tonephin: Die Dosis betrug 0,0004 E Vasopressin entsprechend der das Orasthin in den vorangehenden Versuchen begleitenden Menge. Harnmenge und — ungefähr entsprechend — Cl- und Na-Ausscheidung sinken auf etwa die halben Werte gegenüber den Kontrollen. Die Verzögerung der Diurese ist stärker als in den Orasthin-Versuchen mit der gleichen Vasopressinmenge.

Tonephin + Salyrgan: Die Vasopressindosis der vorangehenden Versuchsserie wurde mit der Salyrgandosis der Orasthinversuche kombiniert. Während Harnmenge und Diureseverzögerung durch die Salyrganbeimischung nicht wesentlich beeinflußt werden, wird die Cl- und Na-Ausscheidung wieder auf die bei alleiniger Salyrgangabe beobachteten Werte erhöht.

Hypophysin: Die angewandte Dosis dieses nicht fraktionierten Hinterlappenextraktes enthielt je 0,03 E Vasopressin und Oxytocin. Die Harnmenge ist gegenüber den Kontrollen geringgradig vermindert. Während die Cl-Ausscheidung fast verdoppelt wird, sinkt die ausgeschiedene Na-Menge noch unter den Wert bei den Kontrollen ab. Die Diureseverzögerung ist entsprechend der relativ großen Vasopressindosis sehr ausgesprochen.

Salyrgan + Hypophysin: Die Dosen betrugen 0,01 ccm Salyrgan und 0,03 E Hypophysin. Die Harnmenge ist etwas vermehrt etwa wie bei der Kombination Salyrgan + Orasthin. Die Cl-Ausscheidung beträgt gegenüber den Kontrollen oder alleiniger Salyrgangabe das Fünffache, gegenüber dem Hypophysinversuch das Dreifache. Die Na-Ausscheidung, die unter Hypophysin allein deutlich vermindert war, schnellt durch den Salyrganzusatz auf das Achtzehnfache hinauf und liegt etwa 10mal höher als bei den Kontrollen oder alleiniger Salyrgangabe. Die diureseverzögernde Wirkung des Hypophysin wird durch den Salyrganzusatz dagegen nicht wesentlich verändert.

Salyrgan + Präphyson: Die Dosierung betrug wieder 0,01 ccm Salyrganlösung + soviel Präphyson Handelslösung als 0,03 E Hypophysenhinterlappen-Wirkstoff entsprach, also etwa 0,1—0,05 ccm. Das Wirkungsbild gleicht in allen Teilen ziemlich weitgehend demjenigen der Kombination Salyrgan + Hypophysin.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Obwohl die in der vorliegenden Form bereits im Jahre 1941 angestellten Versuche in mancher Hinsicht einer Ergänzung bedürfen, sollen sie trotzdem mitgeteilt werden, da infolge der Kriegs- und Nachkriegsverhältnisse und des tragischen Todes meiner Mitarbeiterin* einer Vervollständigung in absehbarer Zeit kaum möglich sein wird und sie in mancher Hinsicht doch bemerkenswerte Resultate ergeben haben.

Die Versuche zeigen zunächst, daß Salyrgan allein bei der angewandten Dosierung von 5—7 mg je kg an kochsalzarm ernährten Ratten weder auf die Wasser- noch auf die Salzausscheidung einen merklichen Einfluß hat.

Oxytocin steigert nicht nur, wie aus den Arbeiten von Fraser, Kuschinsky und Bundschuh sowie Hotovy bekannt, die Cl-Ausscheidung, sondern in relativ stärkerem Maße noch die der Na-Ionen. Vasopressin hat in den Dosen, wie sie in den Orasthin-Versuchen als Beimengung zum Oxytocin in Frage kamen, keinen merklichen Einfluß auf die Salzausscheidung. Die Verminderung der ausgeschiedenen Na- und Cl-Mengen entspricht ungefähr der Herabsetzung der Harnmenge. Auch bei Na-reich ernährten Tieren und 10mal höherer Vasopressindosierung ändert sich das Ergebnis nicht, wie nachfolgende aus einer anderen Versuchsreihe stammenden Zahlen zeigen:

* Frl. Lisbeth Schmidt fiel am 2. 2. 45 auf der Rückfahrt von ihrer Arbeitsstätte einem Tiefffliegerangriff zum Opfer.

Tabelle 2.
(In dieser Tabelle sind die nach 4 Stunden ausgeschiedenen Mengen angegeben.)

	Zufuhr	Kontrollen	Tonephin	Orasthin
			0,04 E	0,04 E
ccm	36	20,5	9,8	44,8
mg Na	21,4	21,4	12,0	82,1
Tierzahl.	—	24	24	24

Auch hier entspricht die gegenüber den Kontrollen vermindert ausgeschiedene Na-Menge der Einschränkung der Diurese, so daß die Na-Konzentration im Harn praktisch unverändert bleibt. Orasthin erhöht hier die Na-Ausscheidung noch über die an diesen Tieren eintretende Diurese-Steigerung hinaus, wodurch auch die Konzentration im Harn auf nahezu das Doppelte ansteigt. Diese Versuche geben auch eine Bestätigung der Beobachtung von Hotovy, daß die Vermehrung der Harnmenge durch Oxytocin von der zur Verfügung stehenden Salzmenge abhängt, die vermehrte Ionen-Ausscheidung also das Primäre sein dürfte. Die gleiche Beobachtung machten übrigens bereits Unna und Walterskirchen[18] an trocken gehaltenen Hunden mit Gesamt-Hinterlappenextrakten.

Aus den *Hypophysinversuchen* ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß durch äquivalente Dosen Vasopressin die Wirkung des Oxytocins auf die Na-Ausscheidung aufgehoben und diese sogar unter diejenige bei den Kontrollen gedrückt wird, während die Cl-Werte stark erhöht bleiben. Eine Erklärung für dieses auffallende Verhalten dürfte in folgendem liegen: Eigene Versuche[12] haben ergeben, daß durch Vasopressin in einer Dosierung, wie sie den hier angeführten Hypophysinversuchen entspricht, an Ratten die Verminderung der Na-Ausscheidung durch eine starke Vermehrung der K-Ausscheidung überkompensiert wird; die Cl-Ionen dürften daher nur passiv der Kationen-Ausscheidung folgen und erfahren infolgedessen trotz der geringeren Na-Ausscheidung keine Verminderung.

Salyrgan vervielfacht in allen diesbezüglichen Versuchen die durch Oxytocin bereits erhöhte Ausscheidung von Cl und vor allem von Na, obwohl es für sich allein nur einen geringen Einfluß auf die Salzdiurese zeigt. Während in allen anderen Versuchen infolge der Na-armen Ernährung Na retiniert wird, wird unter der kombinierten Salyrgan-Oxytocin-Wirkung die Na-Bilanz negativ. Besonders bemerkenswert ist, daß die auf den Vasopressinanteil zu beziehende Verminderung der Na-Ausscheidung in den Hypophysinversuchen durch Salyrgan vollkommen aufgehoben wird. Dies kann wohl so gedeutet werden, daß die durch Vasopressin erhöhte Rückresorption von Na durch Salyrgan verhindert wird.

Über den Mechanismus der wechselseitigen Verstärkung von Salyrgan und Oxytocin-Wirkung auf den Salzstoffwechsel läßt sich auf Grund der vorliegenden Versuche noch nichts Endgültiges sagen. Die weit über eine einfache Additionswirkung hinausgehende Potenzierung läßt darauf schließen, daß den beiden Wirkstoffen verschiedene Angriffspunkte zuzuordnen sind. Dafür spricht auch, daß trotz sonst gleichsinnig laufender Wirkung die Na-sparende Wirkung des Vasopressin wohl durch Salyrgan, nicht aber, wie die Hypophysinversuche zeigen, durch Oxytocin aufgehoben wird.

Hier zeigt sich übrigens auch wieder, daß Wasser- und Salzstoffwechsel doch nicht so eng gekoppelt sind, als man häufig anzunehmen geneigt ist. Die Hypophysinversuche zeigen nämlich, daß trotz des eben erwähnten Antagonismus des Salyrgan gegen die Na-retinierende Wirkung des Vasopressin die Diuresehemmung in keiner Weise vermindert wird. Dieses Verhalten steht in Einklang mit der Beobachtung von Buschke[15], daß durch Narkose sich wohl die antidiuretische Wirkung von Hinterlappenextrakten, nicht aber ihre salzausschwemmende Wirkung hemmen läßt.

Wo diese als verschieden anzunehmenden Angriffspunkte zu suchen sind, darüber können mangels eigener diesbezüglicher Versuche nur auf Grund der vorliegenden Literatur Vermutungen angestellt werden. Die Schwierigkeit liegt vor allem darin, daß für Salyrgan und die Hinterlappenwirkstoffe Angriffspunkte sowohl an den Nieren wie am Gewebe angenommen werden.

Für eine Salzmobilisierung aus dem „Gewebe", worunter in erster Linie die interzelluläre Flüssigkeit zu verstehen ist, durch Hinterlappenextrakte treten Stehle[16], Melville[17] sowie Unna und Walterskirchen[18] ein. Auch die Versuche von Miura[19], Buschke[20], Isaak und Siegel[21] sowie Gilman und Barbour[22] sprechen für die Mobilisierung einer hypertonischen Salzlösung aus dem Gewebe ins Blut. Andererseits zeigen die Versuche von Starling und Verney[23] am Herz-Lungen-Nieren-Präparat, die von Fee und Hemmingway[24] sowie Gremels[25] bestätigt wurden, daß den Hinterlappenextrakten auch bezüglich der Salzdiurese ein renaler Angriffspunkt zukommt. Die Nachprüfung aller dieser Versuche unter Verwendung der getrennten Fraktionen könnte hier eine weitere Klärung bringen.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bezüglich des Salyrgan. Auch hier sprechen die Beobachtungen von Gremels[25] am Herz-Lungen-Nieren-Präparat, die Versuche von Blumgart und Mitarbeitern[26], die eine der Diuresesteigerung proportionaler Verminderung der tubulären Rückresorption fanden, sowie ein Teil der Versuche von Möller[27], in denen eine starke Steigerung der Salyrganwirkung bei intravenöser Infusion von Kochsalzlösung eintrat, für einen renalen Angriffspunkt.

Andererseits weisen die Erhöhung der Cl-Konzentration und die Herabsetzung des Hämoglobingehaltes durch Salyrgan nach Ausschaltung der Nieren in anderen Versuchen von Möller auf eine Gewebswirkung hin, so daß dieser Autor für eine komplexe Wirkung sowohl an der Niere wie am Gewebe eintritt.

Einen Hinweis, in welcher Richtung vielleicht eine Lösung dieser Schwierigkeiten zu suchen wäre, können die Beobachtungen von Schönholzer[28] geben. Dieser Autor fand in klinischen Versuchen, daß die Zufuhr von Na-haltigen, aber Cl-freien Diätsalzen zum Erlöschen der Salyrganwirkung führt, während Zufuhr von Cl-Ionen von einer Steigerung der Salyrgandiurese gefolgt ist. Er kommt zu dem Schluß, daß das Salyrgan vor allem durch eine Mobilisierung des Cl wirkt und Na sowie Wasser nur sekundär folgen.

Man könnte also zu dem vorläufig nur als Arbeitshypothese zu wertenden Schluß kommen, daß die wechselseitige Potenzierung von Salyrgan und Oxytocin dadurch zustande kommt, daß durch Salyrgan in erster Linie das Cl, durch Oxytocin vor allem das Na mobilisiert und ausgeschieden wird.

Es ergibt sich daraus die Konsequenz, daß bei allen derartigen Versuchen nicht nur die Cl-, sondern auch die Na-Ausscheidung zu verfolgen ist, eine Forderung, die auch bereits Schönholzer aufgestellt hat.

Eine weitere Klärung der noch offenstehenden Fragen läßt sich vielleicht durch entsprechende Versuche an einerseits Na-arm und Cl-reich, andererseits an Cl-arm und Na-reich ernährten Tieren bringen. Auch der vermutlich durch Na-Mobilisierung wirkende, fördernde Einfluß der Gaben von Chlorammonium auf die Salyrgandiurese müßte in die Versuche einbezogen werden.

Was schließlich die Frage des Vorhandenseins diuresefördernder Stoffe im Vorderlappen betrifft, so lassen die hier mitgeteilten Versuche einen verwertbaren Unterschied zwischen der Kombination von Präphyson bzw. der äquivalenten Menge von Hinterlappenextrakten mit Salyrgan nicht erkennen. Daß in diesen Versuchen die Cl- und Na-Ausscheidung gegenüber den entsprechenden Orasthinversuchen noch weiter erhöht ist, dürfte wohl darauf beruhen, daß durch den größeren Vasopressinanteil die Resorption verzögert und die Wirkung protrahiert ist. Die Annahme eines eigenen, kurzfristig wirkenden diuresefördernden Wirkstoffes im Vorderlappen wird daher durch die Versuche nicht gestützt. Damit soll aber keineswegs gesagt werden, daß nicht als sekundäre Folge der Wirkung eines der bekannten adenotropen oder stoffwechselwirksamen Vorderlappen-Wirkstoffes eine Diuresesteigerung nach längerer Latenzzeit auftreten kann.

Zusammenfassung.

1. An Hand von Diureseversuchen an weißen Ratten wird die wechselseitige Beeinflussung von Salyrgan und den Wirkstoffen des Hinterlappens der Hypophyse geprüft.

2. Die bereits bekannte Cl-ausschwemmende Wirkung des Oxytocin wird bestätigt.

3. Oxytocin vermehrt in noch stärkerem Maß als die Cl-Ausscheidung die Na-Abgabe im Harn.

4. Vasopressin hat keinen fördernden Einfluß auf die Salzdiurese. Es hebt die Na-ausschwemmende Wirkung des Oxytocin auf.

5. Salyrgan allein hat an NaCl-arm ernährten Ratten keinen Einfluß auf Wasser- und Salzdiurese.

6. Salyrgan verstärkt außerordentlich die Oxytocinwirkung auf die Cl- und vor allem die Na-Ausscheidung.

7. Salyrgan hebt die Einschränkung der Na-Ausscheidung nach Vasopressin auf.

8. Die wassereinsparende Wirkung des Vasopressin wird an salzarm ernährten Ratten durch Salyrgan nicht beeinflußt.

9. Präphyson verhält sich in Kombination mit Salyrgan genau so wie seinem Gehalt an Hinterlappenwirkstoffen entsprechende Hinterlappenextrakt. Die Versuche stützten daher nicht die Annahme eines kurzfristig die Diurese fördernden Wirkstoffes im Vorderlappen.

10. Der über eine einfache Addition hinausgehende potenzierende Einfluß des Salyrgan auf die Oxytocinwirkung an der Salzdiurese läßt auf verschiedene Angriffspunkte schließen. Als Arbeitshypothese wird die Vermutung geäußert, daß durch Salyrgan primär die Cl-Auscheidung, durch Oxytocin primär die Na-Ausscheidung gefördert wird.

Literatur.

[1] Curschmann, H.: Klin. Wschr. **1939**, 1464. — Riwoldt, K. H.: Z. klin. Med. **137**, 612 (1940). — [3] Köhler, V. u. E. Jenninger: Klin. Wschr. **1940**, 949. — [4] Teel, H. M.: J. amer. med. Assoc. **93**, 760 (1929). — [5] Barmes, B. O.: I. F. Regan and I. G. Bueno: Amer. J. Physiol. **105**, 550 (1933). — [6] Richter, C. P.: Amer. J. Physiol. **110**, 439 (1934). — [7] Rothschild, F., H. Staub u. K. Mezey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 61 (1935). — [8] Hotovy, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, 219 (1943). — [9] Draper: Amer. J. Physiol. **89**, 273 (1929). — [10] Fraser, A. M.: J. Pharmakol. (Am.) **60**, 89 (1937). — J. Physiol. (Brit.) **101**, 236 (1942). — [11] Kuschinsky u. Bundschuh: Klin. Wschr. **1939**, 207. — Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 683 (1939). — [12] Schaumann: Vortrag in der Wiener Biolog. Ges. März 1942. — [13] Burn: Quart. J. Pharmacy **4**, 517 (1931). — [14] Vollmer, H. u. A. Irmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 474 (1939). — [15] Buschke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **136**, 43 (1928). — [16] Stehle: Amer. J. Physiol. **79**, 289 (1936). — [17] Melville: J. Physiol. (Brit.) **87**, 129 (1936). — [18] Unna u. Walterskirchen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 681 (1936). — [19] Miura: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 1 (1925). — [20] Buschke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **136**, 63 (1928). — [21] Isaak u. Siegel: Klin. Wschr. **1929**, 1700. — [22] Gilmann and Barbour: J. Pharmacol. (Am.) **48**, 267 (1933). — [23] Starling u. Verney: Proc. roy. Soc.,Biol. Sei. Lond. **97**, 321 (1925). — [24] Fee u. Hemingway: J. Physiol. (Brit.) **65**, 100 (1928). — [25] Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch, **140**, 205 (1929). — [26] Blumgart, H.: D. R. Gilligan, R. C. Levy, M. G. Brown u. M. C. Volk: Arch. int. Med. (Am.) **54**, 40 (1934). — [27] Möller, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **148**, 56 (1930). — [28] Schönholzer, G.: Schweiz. med. Wschr. **69**, 1321 (1939).

Über einige Gesetzmäßigkeiten der Diurese*.

Von

Leopold Ther, Frankfurt a. M., Theodor-Stern-Haus.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Oktober 1947.)

Der hier unternommene Versuch, die beim Wasserstoß ausgeschiedene Harnmenge in ihrer Abhängigkeit von Zeit, Menge und Zusammensetzung der getrunkenen Flüssigkeit mathematisch zu erfassen, galt dem Ziel, einen zahlenmäßigen Ausdruck für die Diuresegeschwindigkeit zu finden. Als Test diente der in der Klinik übliche, mit 1,5 Liter Leitungswasser durchgeführte Wasserstoß nach Volhard mit angeschlossenem Konzentrationsversuch. Die Gesetze nach denen die Harnausscheidung dabei verläuft, wurden an einem Kollektiv gesunder Versuchspersonen ermittelt[1], da die von einzelnen Individuen gewonnenen Ergebnisse nicht allein von der Menge der getrunkenen Flüssigkeit, ihrer chemischen Zusammensetzung und von der Funktionstüchtigkeit der Niere abhängen, sondern auch durch extrarenale Faktoren (Resorptionsgeschwindigkeit im Magen und Darmtrakt, Wasser- und Salzgehalt des Bindegewebes, körperliche Tätigkeit, Ernährung, seelische Zustände u. a.) beeinflußt werden und somit starke Streuungen von der Norm aufweisen können. Aus den in einzelnen Versuchen gewonnenen Werten wurden Mittelwerte gebildet

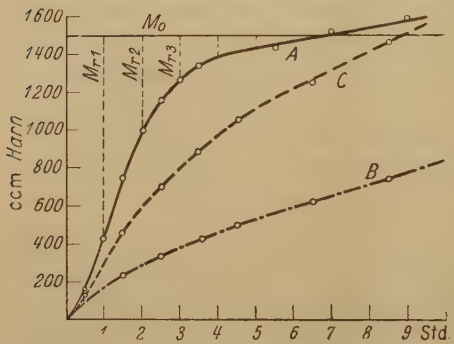


Abb. 1. Mittelwertskurven der Harnausscheidung. A = 1,5 Liter Leitungswasser (22 Personen), B = 1,5 Liter physiologische Kochsalzlösung (20 Personen), C = 1,5 Liter physiologische Kochsalzlösung plus 0,25 g Theophyllin (10 Personen). Endwerte der Versuche nach 24 Stunden s. Tabelle 1. M_{r1}, M_{r2} usw. ist die retinierte Wassermenge nach 1, 2 usw. Stunden. M_0 ist die getrunkene Wassermenge (1,5 Liter).

* Herrn Prof. W. Heubner zum 70. Geburtstag.

[1] Die Untersuchungen wurden in den Wintermonaten 1945/46 auf der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Heidenheim durchgeführt. Herrn Dr. R. Jehn danke ich für sein entgegenkommendes Interesse, Herrn G. Vogel für die Unterstützung bei diesen Untersuchungen.

Ganz besonders danke ich auch Herrn Prof. H. Schäfer (Bad Nauheim, Kerckhoff-Institut) für seine Hilfe bei der mathematischen Auswertung der Kurven.

und graphisch dargestellt, indem auf der Abszisse die Zeit und auf der Ordinate die zu dieser Zeit ausgeschiedene Harnmenge aufgetragen wurde (Abb. 1)[1].

Aus der Kurve A der Abb. 1, einer Mittelwertskurve der Harnausscheidung von 22 Versuchspersonen ersieht man, daß nach dem Trinken von 1,5 Litern Leitungswasser beim Nierengesunden das Maximum der Ausscheidungsgeschwindigkeit in der ersten Hälfte der 2. Stunde liegt und durchschnittlich etwa 350 ccm je

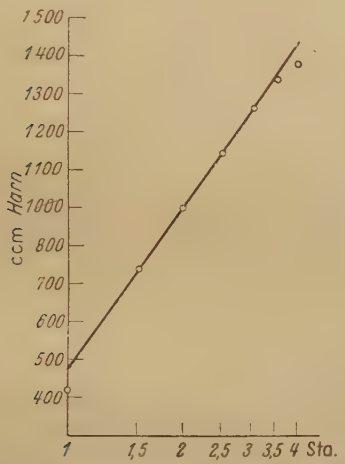


Abb. 2. Mittelwertskurve der Harnausscheidung nach Aufnahme von 1,5 Liter Leitungswasser (22 Personen). Zeitwerte in logarithmischem Maßstab.

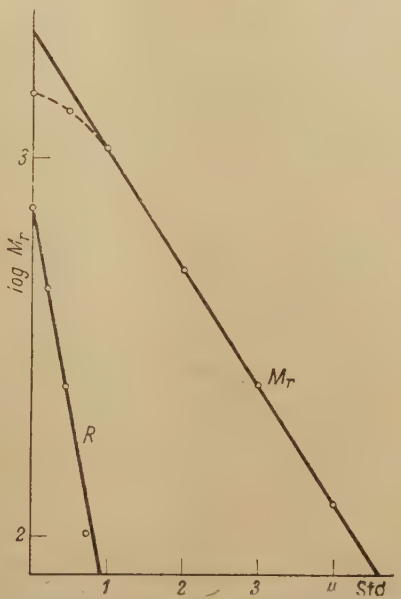


Abb. 3. Retinierte Wassermenge M_r nach Aufnahme von 1,5 Liter Leitungswasser (22 Personen). *R* . . Erklärung im Text.

$^1/_2$ Stunde beträgt. Von diesem Maximum an wird die Harnausscheidung innerhalb der nächsten Zeiteinheiten geringer. Die Gesetzmäßigkeit, mit der die Diurese abnimmt, läßt sich einfach ermitteln, wenn man in der graphischen Darstellung entweder die Zeit oder die Werte der noch im Organismus zurückgebliebenen Wassermenge (M_r) im logarithmischen Maßstab aufträgt. Im ersten Falle (Abb. 2) erhält man durch Verbindung der Punkte, die die insgesamt ausgeschiedenen Harnmengen angeben, eine Gerade, für die die Gleichung gilt:

$$y = a\,x + b.$$

Setzt man für y die Harnmenge M und für x den log t, so lassen sich die beiden Konstanten a und b leicht berechnen. Für den VOLHARDschen

[1] Die Tabellen nach denen die Mittelwerte und die mittleren Fehler der Mittelwerte berechnet wurden, können beim Verfasser eingesehen werden.

Versuch gilt damit die Gleichung:

$$M_t = a \cdot \log t + b,$$

die besagt, daß *die zur Zeit t insgesamt ausgeschiedene Harnmenge M_t dem Logarithmus der Zeit t direkt proportional ist.*

Für die mathematische Auswertung ist es jedoch notwendig, nicht die Zeit, sondern den Vorgang der Ausscheidung logarithmisch darzustellen. In Abb. 1 ist die getrunkene Menge M_o als horizontale Linie eingezeichnet. Wird die zur Zeit t bereits ausgeschiedene Harnmenge M_a von der getrunkenen Wassermenge abgezogen, so verbleibt zur Zeit t eine bestimmte, retinierte Wassermenge M_r im Organismus, deren logarithmische Werte in Abb. 3 als Ordinaten aufgetragen sind. Die Kurve zeigt, daß der Vorgang abgesehen von Anfangs- und Endteil exponentiell verläuft. Da die Größe der Wasserausscheidung $\frac{dM_a}{dt}$ zu jedem Zeitpunkt t der noch retinierten Wassermenge M_r proportional ist, gilt die Gleichung:

$$\frac{dM_a}{dt} = K M_r.$$

Integriert ergibt diese Gleichung:

$$M_a = M_o \cdot e^{-K \cdot t}$$

und logarithmiert:

$$K = \frac{1}{t \cdot \log e} \cdot \log \frac{M_o}{M_a}.$$

Die Konstante K läßt sich auch aus der Halbwertszeit (τ), innerhalb der die Kurve auf den halben Wert absinkt, berechnen.

$$\tau = \frac{\ln 2}{K} = \frac{0{,}693}{K} \qquad K = \frac{0{,}693}{\tau}.$$

Konstruiert man die Kurve A (vgl. Abb. 3) durch Auftragen der Logarithmen von M_r als Ordinate, so bleibt die Ist-Kurve gegen die Soll-Kurve (Gerade) in der ersten Stunde zurück. Die Differenz, um welche die Ist-Kurve zu klein ist, läßt sich berechnen, indem man aus den Logarithmen der Soll-Kurve die Numeri der Soll-Werte bildet und die Numeri der Ist-Werte von diesen Soll-Werten subtrahiert. Trägt man die Logarithmen dieser Differenz als Ordinate auf, so erhält man wiederum eine Gerade (R), die steiler als die Soll-Kurve verläuft. Daraus kann man schließen, daß der exponentielle Abfall der retinierten Wassermenge durch einen entgegengerichteten, ebenfalls exponentiell verlaufenden Prozeß beeinträchtigt wird. Die Wasserausscheidung erfolgt also nach dem allgemeinen Gesetz:

$$M_a = M_o \cdot (e^{-K_1 \cdot t} - A \cdot e^{-K_2 \cdot t}),$$

in dem $K_2 \gg K_1$ und A kleiner als 1 ist.

Verzögert man die Diurese, so kann sich K_2 so vergrößern, daß $M_0 \cdot A \cdot e^{-K_2 \cdot t}$ gegenüber $M_0 \cdot e^{-K_1 \cdot t}$ nicht mehr ins Gewicht fällt und die Kurve von Anfang an exponentiell verläuft. Einen extremen Fall von Diureseverzögerung erzielt man, wenn man an Stelle von Leitungswasser physiologische Kochsalzlösung trinken läßt. Die Kurve *B* der Abb. 1, eine Mittelwertskurve der Harnausscheidung von 20 Personen zeigt einen wesentlich flacheren Diureseverlauf, der aber infolge der verzögerten Diurese von Anfang an exponentiell verläuft (vgl. Abb. 4, *B*). Dies ist insofern bemerkenswert, als von manchen Forschern die Diurese nach Trinken von physiologischer Kochsalzlösung auch über längere Zeitstrecken hin als gleichmäßig verlaufend angegeben wurde (vgl. unter anderen E. STARKENSTEIN).

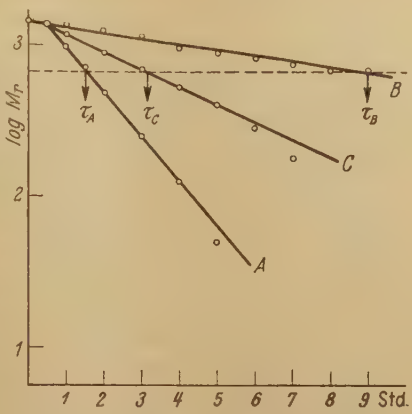


Abb. 4. Retinierte Wassermenge nach Aufnahme von 1,5 Liter Leitungswasser (*A*), 1,5 Liter physiologischer Kochsalzlösung (*B*), 1,5 Liter physiologischer Kochsalzlösung plus 0,25 g Theophyllin (*C*). τ_A, τ_B, τ_C bezeichnen die dazugehörigen Halbwertszeiten.

Zum Unterschied von der Leitungswasserkurve, die beim Gesunden meist deutlich überschießt, zeigt die NaCl-Kurve, daß auch noch nach 24 Stunden ein Teil der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge retiniert wird. Die Beziehung zwischen aufgenommener Kochsalzmenge und der Harnmenge, die innerhalb von 24 Stunden (bei gleicher Wasseraufnahme) ausgeschieden wird, ergibt sich aus einer graphischen Darstellung (Abb. 5), in der auf der Abszisse die aufgenommenen Kochsalzmengen, auf der Ordinate die ausgeschiedenen Harnmengen aufgetragen sind. Die Verbindung der Punkte ergibt eine Gerade. Die nach 24 Stunden ausgeschiedene Harnmenge ist demnach von der aufgenommenen NaCl-Menge gesetzmäßig abhängig, die Gleichung hierfür lautet:

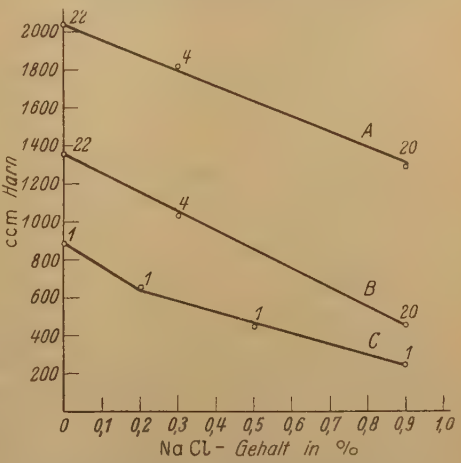


Abb. 5. Harnmenge nach Aufnahme von 1,5 Liter Wasser mit verschiedenem NaCl-Gehalt. 24-Stundenwerte (*A*), 4-Stundenwerte (*B*); 4-Stundenwerte nach 1 Liter Flüssigkeitsaufnahme (*C*) sind nach einer Tabelle E. STARKENSTEINS konstruiert. Die Zahlen über den Punkten geben die Anzahl der Versuche an, die zu dem Wert geführt haben.

$$M_{21} = b + a \cdot [K],$$

worin a und b zwei aus der Abbildung leicht zu berechnende Konstanten, $[K]$ die Kochsalzkonzentration in Prozent bedeuten.

Untersuchungen mit Theophyllin (vgl. Abb. 1, *C* und 4, *C*), die der Frage galten, inwieweit Diuretica den Verlauf der Diuresekurve nach dem Trinken physiologischer Kochsalzlösung verändern, ergaben, daß nur die Halbwertszeit verkürzt wird, während das mathematische Gesetz erhalten bleibt. Da die Halbwertszeit τ bzw. die aus ihr berechnete Ausscheidungs-Geschwindigkeitskonstante K (vgl. die nachstehende Tabelle) den Verlauf der Diurese charakterisiert, so ist sie zur Beurteilung der Diuresegeschwindigkeit besser geeignet als die Angabe der zu einem willkürlichen Zeitpunkt (z. B. 4 Stunden) insgesamt ausgeschiedenen Harnmenge. Sie genügt jedoch nicht, wenn es darauf ankommt, auch den Verlauf der Diurese nach der bereits erfolgten Ausscheidung der getrunkenen Flüssigkeitsmenge zahlenmäßig festzulegen. Schon aus den Beispielen der Tabelle geht hervor, daß noch ein zweiter Wert, der dem Überschießen Rechnung trägt, notwendig ist, um den diuretischen Effekt zahlenmäßig auszudrücken. So wird Leitungswasser zwar doppelt so schnell ausgeschieden als das NaCl-Theophyllin-Gemisch, die Endwerte nach 24 Stunden ($M_{a\,2i}$) sind jedoch bei beiden Versuchen ungefähr gleich groß.

Tabelle 1.

	M_o l	M_a (4) l	M_a (24) l	τ	K
0,9% NaCl	1,5	0,46	1,3	9	$0{,}7 \cdot 10^{-1}$
0,9% NaCl + 0,25 g Theophyllin	1,5	0,96	2,1	3,25	$2{,}1 \cdot 10^{-1}$
Leitungswasser	1,5	1,38	2,0	1,5	$4{,}6 \cdot 10^{-1}$

Um den gesamten Diureseverlauf beim Wasserstoß mit angeschlossenem Konzentrationsversuch durch 24 Stunden festzulegen, sind daher stets zwei Angaben erforderlich:

1. Eine Angabe über die Geschwindigkeit der Ausscheidung der getrunkenen Flüssigkeitsmenge. Sie kommt am deutlichsten durch die Halbwertszeit τ bzw. durch die Diuresegeschwindigkeitskonstante K zum Ausdruck. Da die Halbwertszeit τ durch graphische Interpolation leicht ermittelt werden kann, so bedeutet ihre Feststellung keinerlei rechnerischen Aufwand.

2. Ein Wert über die beim Wasserstoß mit angeschlossenem Konzentrationsversuch insgesamt ausgeschiedene Harnmenge ($M_{a\,24}$), da durch diesen die überschießende Wirkung, die in manchen Versuchen auftritt, zum Ausdruck kommt. Beim Wasserstoß mit angeschlossenem

Konzentrationsversuch kommt hier der 24-Stundenwert nahe, beim Salzstoß wird der 48-Stundenwert herangezogen werden müssen.

Zusammenfassung.

Die beim VOLHARDschen Wasserstoß ausgeschiedene Harnmenge wird in ihrer Abhängigkeit von Zeit, Menge und Zusammensetzung der getrunkenen Flüssigkeit mathematisch erfaßt. Es ergaben sich folgende einfache Beziehungen:

1. Die zur Zeit t insgesamt ausgeschiedene Harnmenge M_t ist dem Logarithmus der Zeit t direkt proportional.

2. Für die Diurese-Geschwindigkeit ist eine Konstante charakteristisch, die man aus der Gleichung:

$$K = \frac{1}{t \cdot \log e} \cdot \log \left(\frac{M_o = \text{getrunkene Menge}}{M_a = \text{ausgeschiedene Menge}} \right)$$

bzw. aus der Halbwertszeit τ (Zeit innerhalb der $\frac{M_o}{2}$ ausgeschieden wird) errechnen kann. In diesem Fall ist

$$K = \frac{\ln 2}{\tau}$$

3. Kochsalz und Diuretica verändern die Größe der Halbwertszeit τ bzw. der Konstante K, aber nicht die mathematische Gesetzmäßigkeit des Verlaufes der Harnausscheidung.

4. Die 24-Stundenwerte beim VOLHARDschen Wasserstoß sind von den aufgenommenen NaCl-Mengen abhängig und innerhalb bestimmter Grenzen diesen proportional.

5. Durch zwei Angaben (K und $M_{a\,(24)}$) kann der gesamte Diureseverlauf beim Wasserstoß mit angeschlossenem Konzentrationsversuch durch 24 Stunden festgelegt werden.

Literatur.

STARKENSTEIN, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **104**, 6 (1922).

Über den Zusammenhang zwischen Chlorit- und Chloratvergiftung*.

Von

Tibor Valyi-Nagy.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. August 1947.)

Unter den Methämoglobin (Hämiglobin) bildenden Giften bietet das Kaliumchlorat wegen des eigenartigen Verlaufes der dadurch bedingten Vergiftung seit langem besonderes Interesse. Vor etwa $^3/_4$ Jahrhundert wurde die Aufmerksamkeit der Kliniker von A. Jakobi [1] auf die gefährlichen Eigenschaften des damals weit verbreiteten Medikaments gelenkt. Von da an wurden die toxischen Eigenschaften des Salzes von zahlreichen Autoren behandelt [2]; doch sind in der neuesten Zeit nur vereinzelte Literaturangaben [3] über Kaliumchloratvergiftungen zu finden. 1879 wies Marchand [4] als erster darauf hin, daß für die Vergiftung das im Blut entstandene Methämoglobin die Verantwortung trägt.

In letzter Zeit wurde der Wirkungsmechanismus der Chloratvergiftung im Pharmakologischen Universitätsinstitut Berlin von W. Heubner und F. Jung [5] systematisch untersucht. Nach ihrem 1941 veröffentlichten Bericht weist das Kaliumchlorat gegenüber anderen methämoglobinbildenden Giften einen wesentlichen Unterschied auf. Eine durch Hämolyse von gewaschenen Erythrozyten hergestellte Hämoglobinlösung färbt sich durch Zusatz von $NaNO_2$, $K_3Fe(CN)_6$ oder Chinon sofort mit einem Schlage braun, weil die Oxydation des Hämoglobins augenblicklich erfolgt. Nach längerem Stehen weisen die Lösungen keinerlei weitere Veränderungen auf. Setzt man aber der gleichen Hämoglobinlösung Kaliumchlorat zu, so ändert sich die Farbe über eine kürzere oder längere, jedenfalls aber bequem meßbare Zeit zunächst nicht, um dann zuerst langsam, später stürmischer ins Bräunliche umzuschlagen. Schließlich entsteht in der Lösung ein grünlichbraun gefärbter, gallertiger Niederschlag.

Der Farbenumschlag ins Braune ist auch hier durch Methämoglobinbildung bedingt. Der Niederschlag jedoch hängt nach Unter-

---

* Herrn Professor W. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet. — Die hier mitgeteilten Untersuchungen wurden vom Verfasser 1943 im Pharmakologischen Institut der Universität Berlin (unter seiner Leitung) durchgeführt. Durch den Krieg war ihre frühere Veröffentlichung verhindert.

suchungen von Jung wahrscheinlich mit der Entstehung von Verdohämochromogen zusammen.

Die Wirkung des Kaliumchlorats auf den Blutfarbstoff ist also durch zwei Phänomene charakterisiert: 1. Die Methämoglobinbildung beginnt erst nach einer gewissen Latenzzeit; 2. mit der Bildung des Methämoglobins kommt die Reaktion nicht zum Stillstand, sondern geht bis zur Destruktion der Blutfarbstoffmolekel weiter. Die Oxydation der Porphyrinkomponente führt zur Bildung einer Reihe von grünen und braunen Farbstoffen, während die Oxydation der Eiweiß-(Globin-) komponente die Bildung von Hämo- und Verdochromogen und die darauf folgende Niederschlagsbildung bedingt.

Heubner und Jung fanden, daß die Latenz der Hämiglobinbildung von der Konzentration des präformiert vorhandenen Hämiglobins abhängt. Je höher diese Konzentration ist, desto kürzer ist die Latenz. Hämiglobinbildende Stoffe, wie Ferrizyanid und Nitrit wirken beschleunigend auf die zwischen Chlorat und Blutfarbstoff ablaufende Reaktion. Das durch Kaliumchloratwirkung entstandene Hämiglobin fördert die Oxydation weiterer Hämoglobinmolekel. Hierdurch gewinnt der Prozeß einen autokatalytischen Charakter. Diese autokatalytische Reaktion ist durch KCN bzw. KSCN zu hemmen, d. h. durch Bildung fester Verbindungen des Hämiglobins; demnach müßte im katalytischen Prozeß die Rückverwandlung des Fe^{III} in Fe^{II} eine Rolle spielen.

Von Heubner und Jung wird angenommen, daß in dem durch das Hämiglobin in Gang gesetzten katalytischen Prozeß die Reduktion des Chlorat-Ions erfolgt. Die Reduktion des Chlorats wäre durch die in der Lösung vorhandenen Chlorid-Ionen erleichtert.

Ferner hat die Wasserstoffionenkonzentration eine Bedeutung. Hierfür sprechen die Beobachtungen, wonach schon die physiologischen p_H-Verschiebungen den Ablauf der Vergiftung wesentlich zu beeinflussen imstande sind. Hirade hat auf die Möglichkeit der Reduktion des Chlorats nach folgender Gleichung hingewiesen: $ClO_3^- + Cl^- + 2\,H^+ = HClO_2 + HClO$. Unter den gewöhnlichen Umständen bestehen aber die Bedingungen der Reaktion weder in vitro noch gar in vivo. Aus der anorganischen Chemie sind aber Stoffe bekannt, durch welche die Reduktion nach obiger Gleichung katalytisch beschleunigt wird. So ist es von Fe^{II} [7], Fe^{III} [8], OsO_4 [9], Ru [10] bereits erwiesen, daß sie als Katalysatoren wirken. Heubner und Jung diskutieren die Möglichkeit, daß das Hämiglobin die Reduktion des Chlorats nach der obigen Gleichung katalytisch beschleunigen könnte. Von dem auf der rechten Seite der Ionengleichung befindlichen Hypochlorit ist bereits erwiesen, daß es eine dem Chlorat ähnliche Wirkung hat, jedoch zum Unterschied davon das Hämoglobin *ohne Latenzzeit* quantitativ zu Hämiglobin oxydiert. Bezüglich des zweiten Reaktionsproduktes, des Chlorits (ClO_2^-) standen bisher keine experimentellen Befunde zur Verfügung.

Die Herstellung des in der chemischen Großindustrie in letzter Zeit unentbehrlich gewordenen reinen $NaClO_2$ hat den Impuls zur toxikologischen Untersuchung dieses Stoffes gegeben. In der erwähnten

Reaktionsgleichung ist die Entstehung von Chlorit theoretisch gestützt. Im folgenden sind Versuche über die Prüfung des Verhaltens des Chlorits auf den Blutfarbstoff in vitro beschrieben.

Experimenteller Teil.

Die Hämo- und Hämiglobinbestimmungen wurden mit dem elektrischen Photometer von HAVEMANN[11] nach der von HAVEMANN, JUNG und ISSEKUTZ[12] ausgearbeiteten Methode ausgeführt.

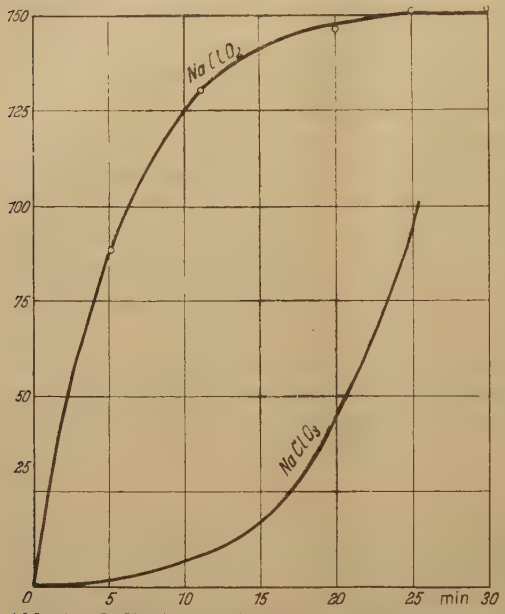


Abb. 1. Ordinate = Teilstriche des Colorimeters. Gelöste Blutkörperchen. Hämoglobin-Endkonzentration = $5{,}32 \cdot 10^{-6}$ Val (= Hb : 4; Hb = 68 000) ClO_2 und ClO_3 Endkonzentration = $3{,}4 \cdot 10^{-2}$ Mol. p_H = 6,8; t = 36,8° C.

Bei der einen Versuchsgruppe wurde die Blutfarbstofflösung durch Wasser-Hämolyse von Rinder-Erythrozyten hergestellt, die vorher mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen waren. Nach der Hämolyse wurde die Lösung mit einem Phosphatpuffer auf p_H 6,8 eingestellt und zentrifugiert, wonach einerseits die gesamte Hämoglobinmenge, andererseits das präformiert vorhandene Hämiglobin bestimmt wurde. Nachher wurden 50—100 ccm Lösung in einem ERLENMEYER-Kolben bei 36,8° C in den Thermostaten gestellt. Nach Ablauf von 10—15 Min. wurden der Lösung Mengen von Chlorit oder Chlorat zugesetzt, die 500 bis 1000 Molen auf 1 Äquivalent Hämoglobin entsprachen. Der Zeitpunkt des Chlorit- bzw. Chloratzusatzes wurde vermerkt und in bestimmten Zeitintervallen, meist alle 10 Min., je 1 ccm zur Hämiglobinbestimmung entnommen.

In einer weiteren Serie wurde eine aus kristallisiertem Hämoglobin hergestellte Lösung für das Studium der Chloritwirkung verwendet.

In Abb. 1 ist die Wirkung des $NaClO_2$ auf eine durch Hämolyse hergestellte Blutfarbstofflösung wiedergegeben. Die Einteilung der Ordinate gibt die am Photometer unmittelbar abgelesenen Absorptionswerte. Wie aus den orientierenden Versuchen auch ohne Rücksichtnahme auf die absoluten Hämoglobinwerte ersichtlich ist, fehlt beim Chlorit — im Gegensatz zum Chlorat — die Latenzzeit vollständig, d. h. beim Zusammenbringen der Lösungen beginnt die Hämiglobinbildung mit großer Geschwindigkeit. Zur quantitativen Auswertung der Differenz zwischen Chlorit- und Chloratwirkung schien die Benützung

eines kristallisierten Präparates verläßlicher. In Abb. 2 ist ein Versuch dieser Art wiedergegeben.

Wie aus dem Verlauf der Hämiglobinkurven ersichtlich, oxydiert sich das vorhandene Hämoglobin auf Zusatz von $NaClO_2$ binnen 10 Min. zu 50—70% zu Hämiglobin, wogegen die Chloratwirkung in Form der von HEUBNER und JUNG beschriebenen autokatalytischen Reaktion abläuft. Charakteristisch für die Chloritwirkung ist die Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit nach Ablauf der ersten 10 Min. Über die Ursache dieser Verlangsamung geben die Versuche keine Anhaltspunkte. Aus den Versuchsdaten geht zweifelsfrei hervor, daß *die durch Chlorite bedingte Reaktion nichtautokatalytischer Natur ist.* Dieser Befund paßt zu der von HEUBNER und JUNG zur Erklärung der Chloratwirkung aufgestellten Hypothese: Das Chlorat-Ion, das an sich nicht hämiglobinbildend ist, wird unter katalytischer Wirkung des präformiert vorhandenen Hämiglobins zu Chlorit reduziert. Vom Chlorit wird Hämoglobin in äquivalenter Menge zu Hämiglobin oxydiert, wodurch die Reduktion weiterer Chlorat-Ionen gefördert wird usw. So beschleunigt sich die Reaktion von sich aus.

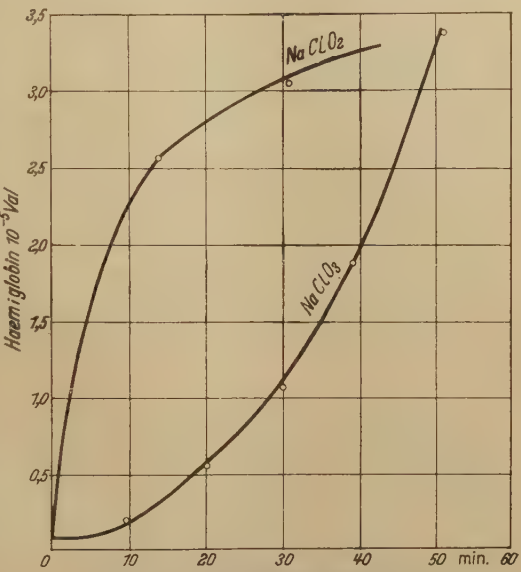


Abb. 2. Kristallisiertes Hämoglobin. Versuchsbedingungen analog Abb. 1.

Die beim Chlorat festgestellte Latenzzeit ist vermutlich nichts anderes als die zur Produktion des zur Reaktion nötigen Produktes (Chlorit oder eventuell Hypochlorit-Ionen) notwendige Zeit.

Zusammenfassung.

1. Die Wirkung einer reinen $NaClO_2$-Lösung auf Hämoglobinlösungen wurde untersucht.

2. Das Chlorit-Ion ist hämiglobinbildend. Im Gegensatz zum Chlorat-Ion erfolgt die Umwandlung zum Hämiglobin rasch, ohne Latenz.

3. Die durch Chlorit bedingte Umwandlung des Hämoglobins ist keine Reaktion von autokatalytischem Typ.

4. Die Annahme von Heubner und Jung, wonach die Reduktion des Chlorats einen integrierenden Bestandteil der durch Chlorat ausgelösten Hämiglobinautokatalyse bildet, wurde gestützt.

Literatur.

[1] Jakobi, A.: Med. Rec. (Am.) **15**, 241 (1879). — Med. Tim. (Am.) **1860**. — [2] Vgl. dazu Heubner: Erg. Physiol. **1940**, 9. — [3] Wagner, K.: Slg Vergift.fälle 5 B, 47; 5 C, 69 (1934). — Führer, H.: Slg Vergift.fälle 8 A, 145 (1937). — [4] Marchand: Virchows Arch. **77**, 455 (1879). — [5] Heubner, W. u. F. Jung: Schweiz. med. Wschr. **1941**, 27. — [6] Heubner, W. u. F. Jung: Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 636 (1942). — [7] Stefanovszky, W. F. u. A. M. Zanko: Chem. J., Ser. A, J. Allg. Chem. 8, 1, 717 (1938). — Chem. Zbl. **1940 I**, 330. — [8] Weber u. Pichler: Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 415 (1940). — [9] Vogels: Cong. Chim. ind. Bruxelles **15**, 1062 (1935). — Chem. Zbl. **1936 II**, 139. — [10] Weber u. Valic: Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 1488 (1939). — [11] Havemann: Biochem. Z. **301**, 105 (1939). [12] Havemann, Jung u. Issekutz jun.: Biochem. Z. **301**, 116 (1939).

Die Hemmung der Wasserdiurese durch Erhöhung des osmotischen Druckes im Karotisplasma und ihre Vermittlung über die Neurohypophyse*.

Von

E. B. Verney,

Sheild Professor of Pharmacology in the University of Cambridge.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Die Hypothese, daß Wasserdiurese durch eine Hemmung der Sekretion einer antidiuretischen Substanz in der Hypophyse bedingt ist, setzt eine Steuerung dieser Sekretion durch den osmotischen Druck im Plasma des arteriellen Blutes voraus. Es war infolgedessen von Interesse, die Wirkungen einer Steigerung des osmotischen Druckes im Karotisplasma auf die Nierenausscheidung während der Wasserdiurese zu bestimmen.

Zu diesen Versuchen wurden ausschließlich Hunde verwendet, deren Damm gespalten war, um das Einführen des Katheters zu erleichtern; jede Art. carotis communis war in einer „Karotisschlinge" (Van Leersum 1911) vorgelagert. Zur Bildung einer solchen Schlinge wurden zwei parallel verlaufende Schnitte entlang der Karotis durch die Haut geführt, die Arterie in den Hautlappen eingebracht, dessen Ränder unter der Arterie vernäht und schließlich die übrigen Schnittränder der Haut durch eine Reihe tiefer Nähte unter der Hautbrücke vereinigt, in der die Karotis nun verlief. Bei diesem operativen Vorgehen wurde der Karotissinus manchmal, aber nicht immer, denerviert. Die Tiere waren gewöhnt, ruhig auf der rechten Seite lange Zeit hindurch zu liegen; während der Versuche wurde der Harn ohne Unterbrechung in graduierten Glasgefäßen aufgefangen. Die Injektionslösungen wurden vor Gebrauch sorgfältig filtriert und sterilisiert, die Injektionen unter aseptischen Bedingungen und möglichst gleichmäßig unter Zuhilfenahme eines im Takt schlagenden Metronoms durchgeführt.

Wirkung von Injektionen hypertonischer Kochsalzlösungen in die Art. carotis. Zuerst war es notwendig, festzustellen, ob die Injektion isotonischer Lösungen von verschiedener Temperatur in die Karotis und hypertonischer Lösungen in eine Vene irgend einen Einfluß auf den Verlauf der Harnausscheidung hatte. Das war nicht der Fall. Wurden jedoch hypertonische Lösungen in die Karotis injiziert, so waren eindeutige Hemmungswirkungen zu beobachten (Abb. 1). Ihr Ausmaß war abhängig von der osmotischen Konzentration der Lösung bei konstanter Injektionsgeschwindigkeit und -dauer, und von der Injektionsdauer bei gleichbleibender Menge und osmotischer Konzentration der Lösung.

* Herrn Professor W. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

Ausbleiben der Wirkung nach Entfernung des Hypophysenhinterlappens. Der Verlauf dieser Hemmungswirkung ließ an eine Auslösung durch den Hypophysenhinterlappen denken; diese Vermutung wurde unter Beweis gestellt, indem das Ausmaß der Wirkung auf eine bestimmte Injektion vor und nach Entfernung des Hinterlappens gemessen wurde. Abb. 2a gibt den Wirkungsablauf nach einer Injektion von 21 ccm einer 2,5%igen Kochsalzlösung innerhalb 20 Sek. in die rechte Karotis wieder; wir möchten gleich auf die große Ähnlichkeit mit der Wirkung von 0,001 E Hypophysenhinterlappenextrakt, intravenös verabreicht, hinweisen (Abb. 2b). Das Ausmaß der Wirkung einer gleichen Injektion in die Karotis nach Entfernung des Hinterlappens ist in Abb. 2c gezeigt; es ist sehr stark vermindert. Es scheint uns nun zulässig, den Wirkungsgrad jeweils in Mengen Hypophysenhinterlappenextrakt zu bestimmen, bei diesem Vorgehen fanden wir das Ausmaß der Wirkung auf eine intrakarotideale Injektion etwa um 90% vermindert, wenn der Hinterlappen entfernt war. Abb. 2d zeigt den Verlauf nach einer intravenösen Injektion von 0,0001 E Hypophysenhinterlappenextrakt. Zwischen dem Wirkungsverlauf nach intravenöser und dem nach intrakarotidaler Verabreichung von Hinterlappenhypophysenextrakt ließ sich kein Unterschied feststellen.

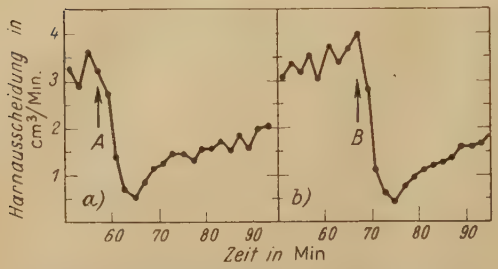


Abb. 1. Hemmungswirkung nach Injektion hypertonischer Lösung in die Karotis: *a* bei *A*-Injektion von 10,5 ccm 1,5%iger Kochsalzlösung in die linke Karotis in 9 Sek.; *b* bei *B*-Injektion von 11 ccm 1,5%iger Kochsalzlösung in die rechte Karotis in 13 Sek.

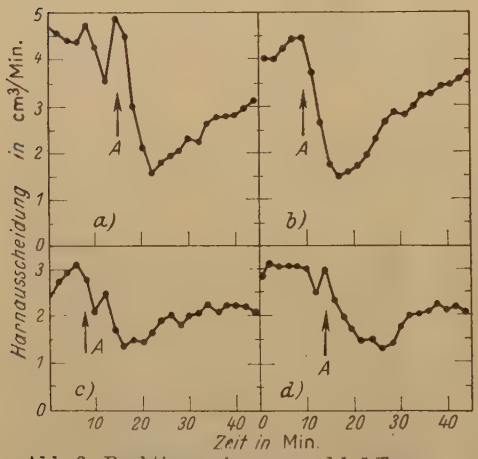


Abb. 2. Reaktionsweisen: *a* und *b* 5 Tage vor, *c* und *d* 11 Tage nach Entfernung des Hypophysenhinterlappens. *a* Bei *A*-Injektion von 21 ccm 2,5%iger Kochsalzlösung in die rechte Karotis in 20 Sek.; *b* bei *A* 0,001 E Hypophysenhinterlappenextrakt intravenös in 15 Sek. injiziert; *c* bei *A*-Injektion von 21 ccm 2,5%iger Kochsalzlösung in die rechte Karotis in 20 Sek.; *d* bei *A* 0,0001 E Hypophysenhinterlappenextrakt intravenös in 20 Sek. injiziert.

Die Wirkung kurzdauernder Injektionen hängt von der osmotischen Beschaffenheit ab. Es lag nun nahe, zu untersuchen, ob tatsächlich die

Erhöhung des osmotischen Druckes im Plasma den Wirkungsablauf nach Injektion in die Karotis auslöste; zu diesem Zweck wurde der Einfluß isosmotischer Lösungen von Kochsalz und Traubenzucker verglichen. Abb. 3a zeigt drei Reaktionen auf 10 ccm 2,5%iger Kochsalzlösung, in: 12 Sek. injiziert; auf 10 ccm 15,4%iger Traubenzuckerlösung in 11 Sek. injiziert und auf 2 ccm 8%iger Kochsalzlösung, in 10 Sek. injiziert; Menge und Konzentration der letzten Lösung waren so berechnet, daß bei der Annahme einer Karotisdurchblutung von 2,5 ccm je Sek. etwa dieselbe Erhöhung des osmotischen Druckes erzielt wurde wie bei den zwei anderen isosmotischen Lösungen. Die drei Kurven sind nicht zu unterscheiden und entsprechen bei der Auswertung 0,0025 E (Abb. 3b). Weiter wurde gefunden, daß kurzdauernde (10 Sek.) Injektionen hypertonischer Lösungen von Rohrzucker und Natriumsulfat in die Karotis annähernd die gleiche Menge antidiuretischer Hypophysenhinterlappensubstanz zur Absonderung bringen wie die entsprechende Injektion isosmotischer Kochsalz- und Traubenzuckerlösungen. Die Wirkung ist somit nicht etwa für Kochsalz spezifisch, sondern für den Anstieg des osmotischen Druckes.

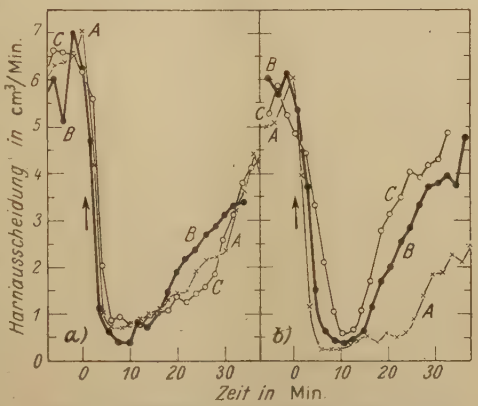


Abb. 3. Ähnlichkeit der Wirkungsfolge äquivalenter Erhöhung im osmotischen Druck des Karotisplasmas: *a* beim Pfeil wurden in die rechte Karotis injiziert: 10 ccm 2,5 %iger Kochsalzlösung in 12 Sek. (Kurve *A*); 10 ccm 15,4 %iger Traubenzuckerlösung in 11 Sek. (Kurve *B*); 2 ccm 8 %iger Kochsalzlösung in 10 Sek. (Kurve *C*); *b* beim Pfeil wurde Hypophysenhinterlappenextrakt in die Malleolarvene injiziert und zwar 0,003 E (Kurve *A*), 0,002 E (Kurve *B*) und 0,001 E (Kurve *C*).

Die Osmorezeptoren[1], wo immer sie lokalisiert sein mögen, zeigen keine Gewöhnung während einer kurzdauernden, durch Kochsalzzufuhr hervorgerufenen Erhöhung des osmotischen Druckes im Karotisplasma, da eine Verdoppelung der Einwirkungszeit mindestens die doppelte Menge antidiuretischer Substanz auf die gleiche Erhöhung hin zur Absonderung bringt. Das Fehlen einer Gewöhnung konnte von dem Gesichtspunkt aus erwartet werden, daß die Osmorezeptoren dauernd mit der Überwachung der antidiuretischen Funktion der Hypophyse befaßt sind.

Wirkung von Infusionen hypertonischer Kochsalzlösungen in die Karotis; ihre quantitative Abschätzung in Mengen von Hypophysenhinterlappen-

[1] Der Ausdruck „Osmorezeptoren" ist gebraucht, ohne eine spezifische Permeabilität im voraus festzulegen, die sie — wie später gezeigt werden mag — gegenüber ihrer Ionen- und Molekülumgebung etwa aufweisen können.

extrakt. Ich will nun auf die Ergebnisse hinweisen, die eine geringere Erhöhung des osmotischen Druckes bei länger dauernder Einwirkung zeitigt. Die Infusionen der Kochsalzlösungen waren mittels eines Motors mit konstanter Tourenzahl bewerkstelligt, welcher über ein Reduktionsgetriebe mit einer Mikrometerschraube verbunden war, die den Stempel einer ganz aus Glas bestehenden Spritze, an der eine feine Injektionsnadel befestigt war, nach vorwärts schob. Zunächst war es notwendig, den Chloridgehalt des Karotisblutes während der Infusion einer hypertonischen Lösung 1. in die linke Art. carotis und 2. in eine Malleolarvene zu bestimmen. Chloridbestimmungen in Blutproben, die in Zwischenräumen von 10 Min. während einer solchen Infusion aus der *rechten* Karotis entnommen wurden, ergaben die genau gleichen Werte, unabhängig davon, ob in die linke Karotis oder in eine Malleolarvene infundiert wurde. Intravenöse Infusionen lassen sich demnach, was die Wirkung einer Erhöhung der Blutchloride innerhalb der Karotis anbelangt, als Kontrolluntersuchung für intrakarotidale Infusionen verwenden.

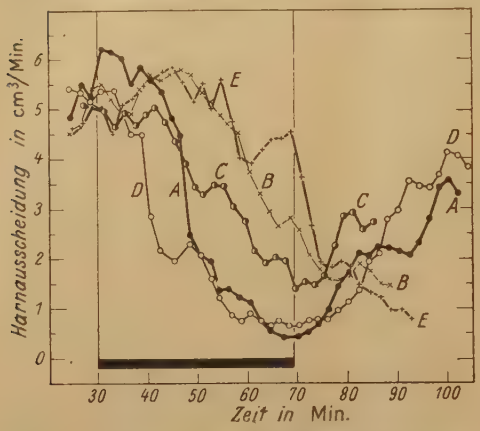


Abb. 4. Wirkung einer Kochsalzdauerinfusion (10,9 ccm 7,33%iger Kochsalzlösung in 40 Min.) in die A. carotis und Methode der Auswertung. Das schwarze Rechteck bezeichnet die Infusionsdauer. Infusion in die rechte Karotis, 0,35 mg Kochsalz je Sekunde (Kurve *A*); Infusion in eine Malleolarvene, je Sekunde: 0,35 mg Kochsalz + 0,000000278 E (Kurve *B*); 0,33 mg Kochsalz + 0,000000667 E (Kurve *C*); 0,33 mg Kochsalz + 0,000001167 E (Kurve *D*); 0,33 mg Kochsalz allein (Kurve *E*).

Wir fanden nun, daß die Harnflut bei 10 Min. dauernder Infusion von Kochsalz in die Karotis früher gehemmt wurde als bei gleichartiger Infusion in die Malleolarvene; eine Verminderung in der Konzentration der Infusionslösung machte den Unterschied größer. Die Ursache des früheren Einsetzens der Diuresehemmung bei Infusion in die Karotis muß der lokalen Erhöhung des osmotischen Druckes im Blut in dem von der Art. carotis versorgten Gefäßabschnitt zugeschrieben werden, die jene im Aortablut übersteigt. In weiteren Versuchen infundierten wir Kochsalz während 40 Min. mit verminderter Geschwindigkeit von 0,33 mg je Sek. (Abb. 4). Während der Infusion stellte sich ein allmählicher Abfall im Harnfluß von 6 auf 0,5 ccm je Min. ein; diese niedrige Ausscheidungsmenge hielt bei Beendigung der Infusion an. Der Harnfluß nahm dann allmählich zu und betrug 40 Min. später gegen 4 ccm je Min. Der Wirkungsverlauf nach einer intravenösen Infusion derselben

Kochsalzlösung, sowohl ohne als auch mit Hypophysenhinterlappenextrakt in steigenden Dosen, ist ebenfalls in Abb. 4 dargestellt. Bei der Auswertung wurde die Wirkung der Infusion in die Karotis äquivalent mit der einer intravenösen Infusion von 0,000001 Hypophysenhinterlappenextrakt je Sek. ($0{,}5 \cdot 10^{-9}$ g je Sek. in Standardpulver) gefunden. Dies mag als die Menge antidiuretischer Substanz angesehen werden, die dauernd beim nicht gewässerten Hund sezerniert wird; die Größe stimmt gut mit den Ergebnissen von SHANNONS Versuchen (1942) zur Substitutionstherapie bei Diabetes insipidus am Hund überein. Die Karotisdurchblutung beim Versuchstier von Abb. 4 liegt wahrscheinlich bei 2,5 ccm je Sek. Unter dieser Voraussetzung beträgt der Anstieg in den Blutchloriden, auf den die Osmorezeptoren reagieren und die Absonderung von 0,000001 E je Sek. in der Hypophyse bewirken, 8 mg-%, oder, gemessen an der Erhöhung des osmotischen Druckes in der wäßrigen Phase des Blutes, 96 mm Hg, d. i. ein Anstieg von weniger als 2%. Diese Veränderung in den Blutchloriden liegt ganz innerhalb des Bereiches des Abfalls, wie er bei der Wasserdiurese am Menschen beobachtet wird, — PRIESTLEY (1921) fand einen Abfall von 35 mg-% im venösen Blut — und die Kleinheit dieser Zahl gewinnt zusätzlich Interesse, wenn bedacht wird, daß die Karotisinfusion nur auf einer Seite vorgenommen wurde. Während die im vorstehenden angeführten Versuche Rezeptoren aufgedeckt haben, die in funktionellem Zusammenhang mit der Neurohypophyse sind und auf sehr geringe Änderungen im osmotischen Druck der Umgebung reagieren, haben andere Untersuchungen erwiesen, daß die „Membran" dieser Rezeptoren auch über eine spezifische Permeabilität verfügt. So bleibt eine kurzdauernde (10 Sek.) Injektion einer hypertonischen Harnstofflösung in die Karotis ganz ohne Wirkung; und während eine Dauerinfusion von Rohrzucker (40 Min.) in die Karotis, die den gleichen örtlichen Anstieg im osmotischen Druck wie Kochsalz im Versuch in Abb. 4 bewirkt, annähernd dieselbe Menge antidiuretischen Hormons freigesetzt, zeigt eine entsprechende Infusion von Traubenzucker, die einen örtlichen Blutzuckeranstieg von 80 mg-% zur Folge hat, keinen erkennbaren Einfluß auf den Verlauf der Wasserdiurese. Es scheint, daß jedenfalls innerhalb dieser Zeitspannen die Osmorezeptoren für Harnstoff frei permeabel, für Traubenzucker weniger frei permeabel und für Kochsalz verhältnismäßig inpermeabel sind.

Die Lokalisation der Osmorezeptoren ist noch nicht genau bestimmt; wir konnten aber an dem einen Tier, an dem der Versuch in dieser Richtung vorgenommen wurde, finden, daß die antidiuretische Wirkung einer in die Karotis injizierten hypertonischen Kochsalzlösung ausblieb, wenn die Karotis *interna* unterbunden war. Das läßt daran denken, daß das histologische Substrat der osmotischen Regulation in dem Bezirk

zu suchen ist, der zum Versorgungsgebiet dieses Gefäßes gehört, z. B. im Nucleus supraopticus.

Kennzeichen für die hormonalen Eigenschaften der antidiuretischen Hypophysenhinterlappensubstanz.

Das Wiedereinsetzen des Harnflusses nach Beendigung der Infusion in die Karotis (Abb. 4) zeigt, daß die Bildung von antidiuretischer Hypophysenhinterlappensubstanz durch einen Abfall der Blutchloride und die anschließende Dämpfung der Aktivität der Osmorezeptoren gehemmt wird. Der Verlauf in der Wiederkehr des Harnflusses muß durch den allmählichen, in der Niere und vielleicht auch im Blut sich vollziehenden Abbau der Menge antidiuretischer Substanz bestimmt sein, welche die Harnabscheidung auf einem nichtdiuretischen Niveau unterhalten hatte. Wasserdiurese kann demnach passend und richtig als eine Art von physiologischem Diabetes insipidus bezeichnet werden; und da kann es kaum einen Zweifel geben, daß das antidiuretische Sekret der Neurohypophyse ein Hormon im vollen physiologischen Sinn ist, indem seine Freisetzung dauernd durch die eben vorhandene Konzentration der Chloride — und vielleicht auch anderer osmotisch aktiver Substanzen — im Plasma des arteriellen Blutes gesteuert wird.

Literatur.

Klisiecki, A., M. Pickford, P. Rothschild and E. B. Verney: Proc. roy. Soc., Lond. **112**, 496 (1933). — Priestley, J. G.: J. Physiol. (Brit.) **55**, 305 (1921). — Shannon, J. A.: J. exper. Med. (Am.) **76**, 371 (1942). — Van Leersum, E. C.: Pflügers Arch. **142**, 377 (1911).

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. med. K. Thomas, z. Zt. Erlangen).

Stoffwechselbelastung mit Atophanyl*.

Von

Günther Weitzel.

(Eingegangen am 18. Juni 1947.)

Im Rahmen unserer Untersuchungen über den Einfluß von Leber- und Nierenschäden auf die *Ausscheidung organischer Säuren im Harn* wurden unter anderem Stoffwechselbelastungen mit dem vielfach als Leberzellgift angesehenen Atophan (2-Phenylchinolinkarbonsäure-4) herangezogen. Die Verbindung wurde in Form des Präparates „Atophanyl" (Schering) zwei stoffwechselgesunden Versuchspersonen über längere Zeit intravenös zugeführt.

Die klinische Medizin steht dem Atophan mit einer deutlichen Unsicherheit gegenüber. In der Literatur sind zahlreiche Fälle beschrieben, wo nach mehr oder weniger großen Atophangaben ein schwerer Leberschaden auftrat, auch mit tödlichem Ausgang durch akute gelbe Leberatrophie; Magen- und Darmgeschwüre sowie Exantheme werden ebenfalls angeführt (Literatur in den einschlägigen Handbüchern). Besonders Straub[1] hat mehrfach, vor allem in der Arbeit „Vorsicht mit Atophan", vor Anwendung des Mittels gewarnt. Andererseits wird vielfach über die erfolgreiche Anwendung des Atophans berichtet, ohne daß Schäden auftraten (s. vor allem Schittenhelm[2]). Auf jeden Fall müssen aber gewisse Vorsichtsmaßregeln eingehalten werden: nicht zu hohe Dosen, ausreichende Behandlungspausen wegen der Kumulationsgefahr, Nichtanwendung bei bereits bestehendem Leberschaden.

Feinere Anzeichen einer etwa beginnenden Atophanschädigung sind bisher nicht bekannt, da die Urobilinogenreaktion und die anderen üblichen klinischen Proben meistens versagen. Oft ist es erst der schwere, häufig nicht mehr reparable Leberschaden, der zum Absetzen des Mittels führt. Es ist aber wohl sicher, daß vor dem äußerlich sichtbaren Zusammenbruch des Leberparenchyms schwere Anomalien im Zellstoffwechsel auftreten müssen, die schließlich zur Auflösung des Gewebes führen. Wenn daher Atophan wirklich ein Leberzellgift ist, so müßte eine genügend empfindliche Methodik, die bisher offenbar fehlt, auch die anfänglichen Schädigungen erfassen können.

* Herrn Professor Dr. W. Heubner zum 70. Geburtstag gewidmet.

Unter diesem Gesichtspunkt wurde von uns die Ausscheidung der Zitronensäure, Bernsteinsäure und Hippursäure bzw. Benzoesäure bei Atophanylbelastung bestimmt. Die *Zitronensäure* nimmt bekanntlich eine zentrale Stellung im Zellstoffwechsel ein und ist in ihrer Ausscheidung durch Änderung der Stoffwechsellage leicht zu beeinflussen. Befunde über Änderung der Zitronensäureausscheidung bei Leberparenchymschäden liegen vor (THUNBERG [3], SJÖSTRÖM [4], MARTENSSON [5]). Die *Bernsteinsäure*, die ebenfalls eine wichtige Rolle im Zellgeschehen spielt, wird täglich in geringer, aber ziemlich konstanter Menge ausgeschieden. Bisher ist bekannt, daß sie bei Zufuhr körperfremder normaler und verzweigter Dikarbonsäuren vermehrt im Harn erscheint, vermutlich als Folge einer Störung fermentativer Umsetzungen der Niere, vielleicht auch der Leber (THOMAS und WEITZEL [6]). Für das Ausmaß der *Hippursäure*synthese in Leber und Niere ist im allgemeinen die anfallende Benzoesäure der limitierende Faktor. Nur wenn sie in größeren Dosen zur Leberfunktionsprüfung dient, ist sie es nicht mehr; dann treten andere Faktoren limitierend ein. Über die Herkunft der normalerweise anfallenden Benzoesäure herrscht noch keine volle Klarheit. Vermutlich sind einerseits aromatische Aminosäuren (Phenylalanin), andererseits verschiedene aromatische Verbindungen der pflanzlichen Nahrung als Muttersubstanzen anzusehen. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Menge der ausgeschiedenen Benzoesäure bestimmt, woraus sich die Hippursäure berechnen läßt unter der für den Menschen wohl zutreffenden Voraussetzung, daß der allergrößte Teil der Benzoesäure als Hippursäure den Organismus verläßt. Eine von der normalen Schwankungsbreite nach oben bzw. unten abweichende Benzoesäureausscheidung könnte dann bedingt sein a) durch Änderungen im Eiweißstoffwechsel besonders der Leber (Phenylalanin), b) durch Störungen der Ausscheidungsfähigkeit der Nieren, c) durch höhere Aufnahme von Benzoesäurebildnern durch die stark vegetabilische Kriegsernährung.

GOEDAN [7] gab in seiner Dissertation ein vorläufiges Ergebnis des Atophanylversuches der Versuchsperson G. bezüglich der Bernsteinsäureausscheidung bekannt. Inzwischen haben wir mit einer wesentlich verbesserten Methodik das Versuchsmaterial von G., das quantitativ aufbewahrt worden war, nochmals auf Bernsteinsäure untersucht, sowie Zitronen- und Benzoesäure bestimmt. Hierauf beziehen sich die jetzt im Versuchsteil unter G. angegebenen Werte.

Versuchsanordnung.

Das intravenös injizierbare Atophanyl (Schering) enthält in 10 ccm Lösung 0,5 g Atophan, daneben die gleiche Menge Salizylsäure. Die eine Versuchsperson F., welche 15 Monate vorher einen hartnäckigen Icterus catarrhalis von 3monatiger Dauer durchgemacht hatte, erhielt in 27 Tagen

21 Injektionen zu 10 ccm. Die andere Versuchsperson G. erhielt in einem halben Jahre 85 Injektionen, auch hier hatte 12 Jahre vorher ein Icterus catarrhalis bestanden. Bei F. wurde der Harn quantitativ während der ganzen Versuchszeit gesammelt, bei G. in den letzten 20 Tagen des Versuches.

Ergebnisse.

Wie zu erwarten war, zeigte das *Blutbild* bei beiden Versuchspersonen keine Besonderheiten, die auf irgendwelche Schädigungen hindeuten könnten. Bei den *Reaktionen des Harns* fiel auf, daß die Urobilinogenprobe in der Kälte stets negativ war, also auch hier kein Anzeichen einer Leberschädigung vorlag. Die positive Diazoreaktion dürfte auf ausgeschiedener Phenylchinolinkarbonsäure bzw. deren Abbauprodukten beruhen, da hier kupplungsfähige Körper vorliegen (Dohrn [8]).

Ausgeschiedene Säuremengen.

Versuchsperson	Zitronensäure je Tag	Bernsteinsäure je Tag	Benzoesäure je Tag	Hippursäure je Tag (aus Benzoesäure berechnet)
	mg	mg	mg	mg
F.	340	17,3	491	720
G.	479	20,6	125,6	184,2

Diese Ergebnisse wurden aus dem vereinigten Harn der gesamten Untersuchungsperiode erhalten und stellen somit Mittelwerte aus 27 Tagen bei F. und 20 Tagen bei G. dar.

Während die *Zitronensäureausscheidung* im normalen Bereich liegt, ist die *Bernsteinsäureausscheidung* bei beiden Versuchspersonen deutlich erhöht. Wir haben bisher mit der gleichen Methode 12 stoffwechselgesunde Personen untersucht und niemals Werte über 12 mg Bernsteinsäure je Tag gefunden, meist beträchtlich weniger. Weshalb allerdings hier diese erhöhte Bernsteinsäureausscheidung auftritt, ist unklar. Der *Benzoesäurewert* liegt bei F. im normalen Bereich, bei G. etwa an der unteren Grenze.

Im ganzen gesehen bleibt also nur die erhöhte Bernsteinsäureausscheidung als Zeichen für eine etwaige Schädigung durch Atophanyl. Inwieweit man aber berechtigt ist, dieses eine Symptom wirklich als „Schädigung" aufzufassen, muß vorläufig offen bleiben. Es fehlt bisher noch an genügend Material, um die Bedeutung einer gesteigerten Succinurie sicher beurteilen zu können. Dagegen zeigt die vorliegende Untersuchung, daß die Phenylchinolinkarbonsäure nicht ein so gefährliches Gift sein kann, wie häufig angenommen wird. Die Versuchsperson F. erhielt 10,5 g Atophan intravenös in 27 Tagen, G. erhielt 42,5 g in

6 Monaten, und trotz früherer Lebererkrankungen — besonders F. war belastet — ließ lediglich die erwähnte Succinurie eine Abweichung von der Norm erkennen. Für die hier benutzte Dosierung gibt die vorliegende Untersuchung denjenigen recht, die als Verteidiger der Phenylchinolinkarbonsäure deren angebliche Giftwirkung auf das Leberparenchym für bisher unbewiesen ansehen.

Versuchsteil.

1. Versuchsperson F. Weiblich. Gewicht 55 kg. In 27 Tagen 21 Ampullen Atophanyl intravenös, enthaltend je 0,5 g Atophan und 0,5 g Salizylsäure als Natriumsalze. Der Harn dieser 27 Tage wurde quantitativ gesammelt. Volumen: 33,7 Liter.

Blutbild, am Ende der Atophanylbelastung: Hämo 77%, Erythro 4,1 Mill., FI. 0,93, Leuko 5800, davon 1% Stab, 45% Segm, 1% Eosin, 12% Mono und 41% Lympho. Blutzucker 78 mg-%, Bilirubin ind. 0,3 mg-%, Takata-Ara neg., Rest-N 26 mg-%.

Reaktionen des Harns. Eiweiß und Zucker negativ. Urobilinogen: in der Kälte negativ, in der Hitze schwache Rötung. Nach Ammoniakzusatz keine Veränderung. Mit einigen Tropfen konz. HCl: Zeißiggelb, dann Aufhellung zu hellgelb. Diazoreaktion nach EHRLICH: starke rubinrote Färbung.

Zitronensäurebestimmung im Harn nach KOMETIANI[9]: Mehrere Proben zu je 50 ccm Harn. Mittelwert aus drei Bestimmungen: 13,62 mg Zitronensäure in 50 ccm Harn. In 33,7 Liter = 9,1799 g. Tägliche Ausscheidung: 340 mg.

Aufarbeitung des Harnes auf *Bernstein-* und *Hippur-* bzw. *Benzoesäure:* (Zur Bernsteinsäuremethode s. THOMAS und WEITZEL[10].)

Von dem gesamten vereinigten Harn (33,7 Liter) wurden 25 Liter, entsprechend 20 Tagen, entnommen. Eingengen des nativen Harns auf dem Wasserbade auf 2,7 Liter. Nach Ansäuern mit H_2SO_4 erste Ätherextraktion (150 Stunden). Trocknen des Ätherrückstandes mit absolutem Äther, Schütteln des Rückstandes auf der Maschine je 6 Stunden mit 250, 200, 150 ccm $NaHSO_4$-Lösung (50%; D, 1,441/20°). Abfiltrieren. In den vereinigten Filtraten die Bernsteinsäure, im ungelösten Rückstand die Hippursäure.

a) *$NaHSO_4$-Filtrat.* Ätherextraktion (150 Stunden), trocknen des Ätherrückstandes mit absolutem Äther. Veresterung mit zusammen 540 ccm Äthanol-Toluol (2:1) und 0,1 ccm konz. H_2SO_4. Petrolätherauszug des Estergemisches, Verseifung, salzsauer im Vakuum zur Trockne. Azetonauszug: 5,0821 g Rückstand. Anhydrisierung mit Essigsäureanhydrid; 1 Stunde unter Rückfluß gekocht.

Abdestillieren des Azetanhydrids i. V., Rückstand zur Sublimation (40 Stunden 125°, 4 mm Hg). Das Rohsublimat wurde mit 300 ccm Wasser gekocht und zur Trockne eingedampft. Es blieben gelbliche Kristalle, mit etwas Öl verschmiert. Nach Absaugen über kleine Tonfilterplatte und Waschen mit wenig Essigester blieb reine Bernsteinsäure zurück. F. 176—180°. Misch-F. 179—182°. Mikro-Bleisukzinatprobe: stark positiv. Ausbeute: 346,2 mg, das sind 17,3 mg Bernsteinsäure je Tag.

b) *$NaHSO_4$-Rückstand.* Zur Spaltung der Hippursäure wurde der Niederschlag in 150 ccm NaOH (20%) aufgenommen und 4 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach Ansäuern mit H_2SO_4 wurde mit Wasserdampf destilliert, bis das abtropfende Destillat blaues Lackmus nicht mehr rötete. Volumen des Destillates: 9 Liter. Es wurde bei schwach alkalischer Reaktion auf dem Wasserbade eingeengt,

mit HCl angesäuert und mit Petroläther ausgeschüttelt (Benzoesäure). Anschließend wurde die salzsaure Lösung mit Äther nachextrahiert, und der Ätherrückstand nochmals mit Petroläther behandelt. In den beiden Petrolätherauszügen befand sich die Benzoesäure, im Ätherrückstand blieben Kristalle zurück, die sich nicht in Petroläther lösten (s. unten).

Benzoesäure. Die vereinigten Petrolätherrückstände wurden in Äthanol (50%) gelöst und auf 500 ccm aufgefüllt. Titration: 20 ccm der Lösung verbrauchten im Mittel 32,19 ccm 0,1-n-NaOH, in 500 ccm waren also 9,817 g Benzoesäure enthalten. Das würde 14,4 g Hippursäure entsprechen. Tägliche Benzoesäureausscheidung: 491 mg. Tägliche Hippursäureausscheidung: 720 mg.

Die im Petroläther unlöslichen Kristalle wurden aus Methanol umkristallisiert. Man erhielt 2 Fraktionen:

1. 2,0134 g	F. 149—151°
2. 1,2048 g	F. 147—149°
3,2182 g	

Misch-Schmelzpunkt mit Salizylsäure (F. 155°):

Bei 1. 153—155°, bei 2. 152—154°.

2. *Versuchsperson G.* Männlich. Gewicht 60 kg. Am Ende einer halbjährigen Atophanylzufuhr (85 Ampullen wurden in meist zweitägigen Abständen injiziert) wurde 20 Tage lang der Harn quantitativ gesammelt. Harnvolumen: 22,7 Liter.

Blutbild nach der Atophanylbelastung (nach GOEDAN [7]): Bilirubin 0,23 mg-%, Takata negativ. Hämo 84%, Blutzucker 81 mg-%, Erythro 4,66 Mill. FI. 0,90. Leuko 5200, davon neutrophile Jugendliche 0, Stab 0, Segm 72%, Eosin 2%, Baso 4%, Mono 7%, Lympho 15%, Thrombo normal. Blutsenkung 3/8.

Reaktionen des Harns. Eiweiß und Zucker negativ. Urobilinogen: erst nach Erwärmen schwache Rötung. Mit konz. HCl Gelbfärbung. Diazoreaktion nach EHRLICH: Rotfärbung.

Zitronensäurebestimmung. Mittelwert aus drei Bestimmungen für 50 ccm Harn: 21,11 mg Cs. In 22,7 Liter: 9,5839 g. Tägliche Ausscheidung: 479 mg.

Aufarbeitung des Harnes. Wiederholung der in ähnlicher Form bei GOEDAN [7] beschriebenen Aufarbeitung mit dem gesamten, wieder vereinigten Material. Im folgenden sind die Ergebnisse beider Aufarbeitungen zusammengefaßt.

22,7 Liter bei nativer Reaktion auf 3,5 Liter eingeengt. Erste Ätherextraktion 150 Stunden. Der Ätherextrakt wurde zur Abtrennung des Unverseifbaren mit ges. wäßriger $KHCO_3$-Lösung behandelt. Im Äther das Unverseifbare: 2,5490 g. Die Kaliumsalzlösung der organischen Säuren wurde auf dem Wasserbade eingedampft, gegen Ende mit verdünnter HCl neutralisiert und zur Trockne gebracht. Die gepulverte Masse wurde auf der Maschine mit 500 ccm $NaHSO_4$-Lösung (50%) intensiv geschüttelt. Vom Ungelösten wurde abfiltriert.

a) *$NaHSO_4$-Filtrat.* Ätherextraktion 150 Stunden. Trocknen des Ätherrückstandes mit absolutem Äther. Veresterung mit zusammen 600 ccm Äthanol-Toluolgemisch und 0,1 ccm konz. H_2SO_4. Petrolätherauszug des Estergemisches (Millon negativ). Verseifung des Petrolätherrückstandes usw. wie oben. Anhydrisierung des Azetonrückstandes und Sublimation; aus dem Roh-Sublimat wurden in der üblichen Weise insgesamt 412,4 mg Bernsteinsäure gewonnen. F. 178—181°. Misch-F. 180—182°. Mikro-Bleisukzinatprobe: stark positiv. Bernsteinsäureausscheidung 20,6 mg täglich, bzw. 18,2 mg im Liter Harn.

b) *$NaHSO_4$-Rückstand.* Auflösen in 150 ccm NaOH (20%), 4 Stunden unter Rückfluß gekocht. Schwefelsauer zur Wasserdampfdestillation. Volumen des Destillates: 5,3 Liter. Einengen des Destillates bei schwach alkalischer Reaktion, ansäuern mit HCl, ausschütteln mit Petroläther. Hieraus Petrolätherrückstand I.

Danach ausschütteln der salzsauren Lösung mit Äther, ausziehen des Ätherrückstandes nochmals mit Petroläther. Hieraus Petrolätherrückstand II. Vereinigen beider Petrolätherrückstände, aufnehmen in Äthanol (50%), auffüllen auf 500 ccm.

Titration: 20 ccm verbrauchten im Mittel 8,235 ccm 0,1-n-NaOH, das sind in 500 ccm 2,512 g Benzoesäure, entsprechend 3,685 g Hippursäure. Tägliche Benzoesäureausscheidung: 126 mg. Tägliche Hippursäureausscheidung: 184 mg.

Salizylsäure war im Ätherrückstand nicht enthalten; nach Ausziehen des Ätherrückstandes mit Petroläther blieben nur einige braune Öltropfen zurück.

Der Rückstand der Wasserdampfdestillation wurde mit Äther extrahiert. Der Ätherextrakt bestand nach Abdestillieren des Äthers aus einem nicht kristallisierenden, tiefbraunen Öl (3,42 g).

Literatur.

[1] Straub, W.: Münch. med. Wschr. **1936**, 169. — [2] Schittenhelm, A.: Münch. med. Wschr. **1936**, 552. — [3] Thunberg, T.: Acta path. scand. (Dän.) **16**. 535 (1933). — [4] Sjöström, P.: Acta chir. scand. (Schwd.) **79**, 105 (1937). — [5] Martensson, J.: Scand. Arch. Physiol. **80**, 303 (1938). — [6] Thomas, K. u. G. Weitzel: Dtsch. med. Wschr. **1946**, 18. — [7] Goedan, J.: Die Bernsteinsäureausscheidung im Harn nach Atophanylbelastung. Inaug.-Diss. Leipzig 1944. — [8] Dohrn, M.: Biochem. Z. **43**, 240 (1912). — [9] Kometiani, P. A.: Z. analyt. Chem. **86**, 359 (1931). — [10] Thomas, K. u. G. Weitzel: Z. physiol. Chem. **282**, H. 5/6 (1948).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Peter-Pàzmàny-Universität Budapest.

Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf den Stoffwechsel.

Von

B. v. Issekutz jun. und J. Gergely.

(Eingegangen am 20. Dezember 1943.)

Seitdem Schneiderlin[1] nachwies, daß Scopolamin die hypnotische Wirkung von Morphin steigert, haben zahlreiche Untersucher den Synergismus zwischen Scopolamin und verschiedenen Narkotika studiert.

So stellten Hauckold[2], Bermann[3], Lewin[4] fest, daß Scopolamin, obgleich für sich allein völlig wirkungslos, die narkotische Wirkung von Urethan, Chloralhydrat, Luminal bei Kaninchen erheblich zu erhöhen vermag. Besonders interessant sind die Untersuchungen Friedbergs[5], aus denen hervorgeht, daß Scopolamin nur die Wirkung von Hirnstammschlafmitteln (Pernocton, Luminal) steigert dagegen die von Rindennarkotika nicht beeinflußt, woraus er schloß, daß der Angriffspunkt des Scopolamins im Hirnstamme liegt. Nach Méhes[6] hat Scopolamin eine doppelte Wirkung: einerseits reizt es die Hirnrinde, andererseits bewirkt es Lähmung des Mittelhirns. Dies erklärt, warum Scopolamin für sich allein bei den meisten Tierarten eine hypnotische Wirkung nicht ausübt. Hebt man die Rindenreizwirkung mittels Morphin auf, dann kommt die narkotische Wirkung des Scopolamins zur Geltung, und man wird einen Morphin-Scopolamin-Synergismus gewahren. Zum Beweise dieser Annahme exstirpierte Méhes die Hirnrinde von Fröschen und Kaninchen und zeigte, daß Scopolamin solche Tiere in gleicher Weise zu narkotisieren vermag, als ob sie mit Morphin behandelt worden wären. Auch wies er nach, daß weder das Rückenmark gelähmt sei, noch daß von einer peripheren kurareartigen Lähmungswirkung die Rede sein könne.

Nach diesen Untersuchungen narkotisiert Scopolamin also nur den Hirnstamm. Mit seiner Wirkung auf den Stoffwechsel befaßte sich Cosentino[7], nach dem Scopolamin zugleich mit Dilaudid gegeben den Stoffwechsel herabmindert.

Sonach stand zu erwarten, daß es durch gemeinsame Anwendung von Morphin und Scopolamin gelingen wird, die hypothalamischen Stoffwechselzentren zu narkotisieren, ohne daß lebenswichtige Zentren schädlich beeinflußt würden. Dies um so mehr, als aus den Untersuchungen Gottliebs[8] über Morphin bekannt ist, daß es das Wärmestichfieber, also den Wärmezentrumsreiz, herabzusetzen vermag.

Die um den Angriffspunkt von Thyroxin entstandene Debatte machte die Ausarbeitung einer solchen Narkosemethode erforderlich, die zu entscheiden ermöglicht, ob eine stoffwechselsteigernde Verbindung durch unmittelbare Wirkung auf die Zellen die Oxydation beschleunigt, oder aber durch Reizung der Stoffwechselzentren den

O_2-Verbrauch erhöht. Dafür schien die Morphin-Scopolaminnarkose besonders geeignet zu sein.

Unsere Versuche bestehen aus zwei Teilen: 1. mußte festgestellt werden, in welcher Weise die Morphin-Scopolaminnarkose den normalen Stoffwechsel beeinflußt, 2. welches ihre Wirkung ist, wenn der O_2-Verbrauch zufolge Reizes der Stoffwechselzentren gesteigert ist.

Methodik.

Wir verwandten zu den Versuchen 180—220 g schwere Ratten. Die O_2-Bestimmung erfolgte mit den von uns[9] bereits früher beschriebenen manometrischen Geräten, die die gleichzeitige Arbeit an mehreren Tieren gestatten und ermöglichten, daß wir den O_2-Verbrauch in kurzen (10 Minuten dauernden) Zeitintervallen ablasen und unter Hinweglassung der herausfallnden Werte nur die Mittelwerte verwandten.

1. Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf den normalen Stoffwechsel.

Zunächst bestimmten wir den Grundstoffwechsel der seit 12 Stunden hungernden Tiere, und nachdem wir die Messungen solange fortgesetzt hatten, bis wir in wenigstens 6 Perioden gut miteinander übereinstimmende Werte erhielten, gaben wir 2—5 mg/100 g Morphin und 0,2—0,5 mg/100 g Scopolamin subkutan. Bei Ratten verursachen diese Gaben einen eigenartigen kataleptischen Zustand, obgleich sie einzeln dosiert keine Narkose hervorbringen. Scopolamin für sich allein angewandt bewirkt sogar eine Erregung, die von Morphin verhindert wird. Die Tiere verbleiben in der ihnen beigebrachten Körperlage, sie stehen oder liegen rücklings mit hervorquellenden Augen, weiter Pupille, zittern nicht, ihre Atmung ist gleichmäßig, ziemlich frequent und tief. Die Wirkung hält lediglich 2—3 Stunden an, nach ihrem Abklingen verhalten sich die Ratten völlig normal.

In einem Teil der Fälle vermochte Morphin nicht die Rindenreizwirkung von Scopolamin völlig zu unterdrücken, und die Tiere wurden unruhig, was mit Erhöhung des O_2-Verbrauchs einherging. Diese Versuche ließen wir bei Zusammenstellung der Ergebnisse außer Betracht. Die Tiere schliefen stets tief, wenn wir ihnen vorher 0,1 g/100 g Urethan gaben. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Säule 1 gibt die Größe der Morphin-Scopolamingabe an, Säule 2 den normalen O_2-Verbrauch der Tiere, Säule 3 die Mittelwerte der Bestimmungen nach Morphin-Scopolamingabe auf 1 Stunde berechnet, Säule 4 die Veränderung in Prozenten.

Aus der Tabelle geht hervor, daß der normale O_2-Verbrauch der Tiere 209 ccm war, nach Morphin-Scopolamin aber 188 ccm. Während er sich im ganzen um 10% verminderte, beträgt die signifikante Differenz 2,44; der Unterschied ist demnach als real zu betrachten.

Nachdem wir also fanden, daß *Morphin-Scopolamin in den von uns angewandten Gaben den normalen O_2-Verbrauch der Tiere nur in geringem Maße beeinflußt*, untersuchten wir weiterhin seine Wirkung, wenn der Stoffwechsel infolge Reizung der Zentren gesteigert ist.

Tabelle 1. *Die Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf den Sauerstoffverbrauch der Ratten.*

Urethan g/100g	Gabe des Morphins und des Scopolamins mg/100 g	Sauerstoffverbrauch in ccm/Stunde vor Morphin-Scopolamin	Sauerstoffverbrauch in ccm/Stunde nach Morphin-Scopolamin	Veränderungen in %
	Mo. 2,0 Scop. 0,5	185	130	−30
	Mo. 2,0 Scop. 0,2	208	182	−12
	Mo. 2,0 Scop. 0,2	215	204	− 5
	Mo. 2,0 Scop. 0,2	238	201	−15
	Mo. 5,0 Scop. 0,5	188	198	+ 5
	,,	223	179	−20
	,,	202	206	+ 2
	,,	266	227	−15
	,,	265	218	−17
	,,	175	165	− 6
	,,	203	199	− 2
	,,	157	173	+10
	,,	172	178	+ 3
	,,	238	140	−41
	,,	194	188	− 3
	,,	234	175	−25
	,,	201	210	+ 5
	,,	200	180	−10
	,,	176	188	+ 7
	,,	216	212	− 2
0,1	,,	288	242	−16
0,1	,,	180	174	− 3
0,1	,,	234	216	− 8
0,1	,,	198	180	− 4
0,1	,,	252	234	− 7
0,1	,,	294	234	−20
0,1	,,	174	156	−10
0,1	,,	156	156	0
0,1	,,	126	114	−10
	Mittelwerte:	209	188	−10

2. Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf die Wärmeregulierung.

Eine bestimmt zentrale Stoffwechselsteigerung läßt sich durch Unterkühlung der Tiere erzielen. Das Verfahren war das folgende: Zunächst bestimmten wir den O_2-Verbrauch bei 29° der mittels Urethan oberflächlich narkotisierten Tiere (0,08 g je 100 g), worauf die Unterkühlungsperiode folgte. Wir setzten die Geräte in ein Wasserbad von 7—9° und begannen nach 30 Min. mit den Messungen, als der Temperaturunterschied bereits ausgeglichen war. Die Tiere blieben im ganzen 90 Min. der Kältewirkung ausgesetzt. Nachdem wir auf diese Weise den Grad der Stoffwechselsteigerung der einzelnen Ratten auf Kühlung hin festgestellt hatten, gaben wir außer Urethan 3 mg/100 g Morphin und 0,3 mg/100 g Scopolamin und maßen die Stoffwechselzunahme auf die gleiche Abkühlung hin. Einzelne Tiere erhielten Morphin-Scopolamin 60 Min. *vor* Beginn der Abkühlungsperiode, andere dagegen 30 Min. *nach* deren Beginn. Das Verhalten der beiden Gruppen war ein wesentlich verschiedenes. Tabelle 2 faßt die Ergebnisse zusammen.

Sie besteht aus 3 Teilen. Im 1. Teil ist die auf Abkühlung hin eintretende Stoffwechselzunahme der nur mit Urethan narkotisierten Gruppe A veranschaulicht, im 2. Teil das Verhalten von Gruppe B, die 60 Min. *vor* Beginn der Abkühlung Morphin-Scopolamin erhielt, der 3. Teil die Reaktion von Gruppe C, die 30 Min. *nach* dem Abkühlungsbeginn mit Morphin-Scopolamin behandelt wurde.

Tabelle 2.

A Kühlungsreaktion bei normalen Tieren					B 3 mg/100 g Morphin + 0,3 mg/100 g Scopolamin 60 Min. vor dem Beginn der Kühlung					C 3 mg/100 g Morphin + 0,3 mg/100 g Scopolamin injiziert 30 Min. nach dem Beginn der Kühlung				
Normaler O_2-Verbrauch ccm/Stunde Temperatur der Tiere	O_2-Verbrauch ccm/Std. nach dem Beginn der Kühlung 30 Min.	50 Min.	90 Min. Temperatur der Tiere	Zunahme des O_2-Verbrauches in %	Normaler O_2-Verbrauch ccm/Stunde Temperatur der Tiere	O_2-Verbrauch ccm/Std. nach dem Beginn der Kühlung 30 Min.	50 Min.	90 Min. Temperatur der Tiere	Zunahme des O_2-Verbrauches in %	Normaler O_2-Verbrauch ccm/Stunde Temperatur der Tiere	O_2-Verbrauch ccm/Std. nach dem Beginn der Kühlung 30 Min.	50 Min.	90 Min. Temperatur der Tiere	Zunahme des O_2-Verbrauches in %
173 37,1	472	412	472 33,7	161	187 37,0	411	425	425 26,0	124					
175 36,8	352	485	400 31,7	141	178 36,8	322	400	413 25,6	103					
206 37,5	487	487	487 34,3	137	241 37,3	371	435	470 25,4	121	234 37,5	502	358	321 25,6	63
150 37,1	405	382	405 35,1	168	170 37,5	226	324	346 25,5	84	135 36,7	326	287	256 27,0	117
253 35,1	427	473	378 29,1	88	234 37,0	271	416	451 23,0	62					
133 34,6	302	360	370 30,9	166	124 36,5	204	274	274 22,6	106					
224 36,9	574	560	491 34,7	134	237 37,4	381	396	410 24,0	65					
177 36,5	421	388	380 33,1	120	177 37,5	314	306	331 25,5	79	223 37,5	436	346	270 27,4	60
140 37,0	430	410	358 35,5	178						125 36,5	373	253	193 28,0	109
222 37,6	420	438	410 35,6	95						182 36,2	331	375	265 25,2	89
164 38,5	374	392	388 35,2	132						179 36,5	360	326	266 27,0	70
Mittelwerte:														
183 36,8	422	435	413 33,5	138	193 37,1	312	372	390 24,7	93	180 36,8	388	324	252 26,7	84

Säule 1 aller 3 Teile zeigt den Grund-O_2-Verbrauch und die Körpertemperatur der Tiere bei 29° C. Die folgenden Säulen stellen den in 30, 50 bzw. 90 Min. der Kühlung gemessenen Stoffwechsel auf 1 Stunde

berechnet dar, ferner die Rektaltemperatur am Ende der Abkühlungsperiode, schließlich die Stoffwechselzunahme in Prozenten. Beim Vergleich dieser Daten fällt sofort auf, daß Kälte eine erheblich geringere Stoffwechselzunahme bewirkt als unter normalen Umständen, gleichviel ob die Ratten vor oder während der Kühlung mit Morphin-Scopolamin behandelt wurden. Während die Zunahme normalerweise 138% betrug, wies sie auf Morphin-Scopolaminwirkung hin nur 93 und 84% auf. Die auf Grund der quadratischen Abweichung berechnete signifikante Differenz beträgt 3,42 bzw. 3,97, so daß der Unterschied als erheblich zu betrachten ist.

Eine wesentliche Differenz beobachteten wir indessen in den O_2-Verbrauchsänderungen, je nachdem wir Morphin-Scopolamin 60 Min. *vor* oder 30 Min. *nach* dem Kühlungsbeginn gaben.

Während der O_2-Verbrauch bei normalen Tieren 30 Min. nach Kühlungsbeginn bereits den Maximalwert erreichte und binnen weiterer 60 Min. sich nur wenig änderte (Mittelwert von 422 auf 413 = — 9), ist der O_2-Verbrauch derjenigen Tiere, die Morphin-Scopolamin 60 Min. vorher bekamen, in den ersten 30 Min. erheblich weniger gesteigert, zeigt jedoch während Abkühlung stark zunehmende Tendenz (Mittelwert von 312 auf 390 = + 78). Dies hat offenbar darin seinen Grund, daß die Wirkung des vorzeitig gegebenen und nur kurze Zeit einwirkenden Morphin-Scopolamins während der Abkühlung bereits im Abklingen war, weshalb der O_2-Verbrauch des Tieres sich dem höheren Wärmeregulationswerte näherte.

Grundverschieden davon ist die Lage bei Zufuhr des Narkoticums in der 30. Min. der Abkühlung: der auf Kältewirkung hin normal zugenommene O_2-Verbrauch beginnt sofort abzunehmen (im Mittelwerte von 388 auf 252 = — 136).

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß Morphin-Scopolamin, während es den normalen Grundstoffwechsel wenig beeinflußt, dagegen die auf Kältewirkung hin auftretende Stoffwechselzunahme zentralen Ursprungs, also das chemische Wärmeregulierungsvermögen der Tiere, in hohem Maße herabzudrücken vermag.

Es sei indessen noch auf einen Umstand aufmerksam gemacht: Die Temperatur der normalen unbehandelten Ratten betrug am Ende der Abkühlungsperiode 33,5 $\pm$ 0,65° C gegenüber anfänglichen 36,8°, die der bereits vor Abkühlung behandelten Tiere am Versuchsende 27,4 $\pm$ 0,46° und die der in der 30. Abkühlungsminute injizierten Tiere 26,7 $\pm$ 0,14° C. Auf Morphin-Scopolaminwirkung hin sinkt demnach die chemische Wärmeregulierung, und damit kühlen die Tiere viel stärker ab. Da indessen einerseits die Verminderung der chemischen Wärmeregulierung eine hochgradige Abkühlung der Tiere zu bewirken vermag,

andererseits starkes Absinken der Körpertemperatur auch den O_2-Verbrauch reduzieren kann, ist es wichtig festzustellen, welche von beiden Wirkungen die primäre ist, bzw. ob sie voneinander unabhängig sind. Unsere Versuche sprechen entschieden für das Letztere, und wir müssen aus ihnen die Schlußfolgerung ableiten, daß Morphin-Scopolamin eine doppelte Wirkung hat: eine kürzer andauernde, die Wärmeregulierung herabmindernde und eine länger währende, die Wärmeabgabe steigernde Wirkung. Erfolgt nämlich die Morphin-Scopolamineinspritzung zu einem Zeitpunkte, wo die Abkühlung den Stoffwechsel bereits steigerte, dann beginnt der O_2-Verbrauch unverzüglich nach der Injektion abzunehmen, obgleich dabei die Körpertemperatur noch nicht erheblich gesunken sein kann. Allein die Reduktion der Wärmeerzeugung kann schon aus dem Grunde nicht Folge des Abkühlens sein, weil in den Fällen, in denen die Morphin-Scopolamininjektion 60 Min. vor Abkühlung erfolgte, der O_2-Verbrauch von der 30. Kühlungsminute ab dauernd zunahm, obgleich die Körpertemperatur nach Abkühlung noch niedriger war als bei den Tieren, die Morphin-Scopolamin während des Kühlens bekamen, und bei denen der Stoffwechsel demzufolge stark fallende Tendenz aufwies. Der Unterschied zwischen den durchschnittlichen Körpertemperaturen der beiden Gruppen beträgt 2^0 und ist auf Grund der signifikanten Differenz (3,13) als ansehnlich zu betrachten.

Während der O_2-Verbrauch bei Gruppe 1 in der 90. Kühlungsminute im Mittelwerte 390 ccm betrug, die Körpertemperatur der Ratten aber $24{,}7^0$, war der O_2-Verbrauch in Gruppe 2 am Ende der Kühlperiode nur 252 ccm, die Körpertemperatur aber $26{,}7^0$ C.

Demgegenüber rührt die Temperatursenkung auch nicht ausschließlich von dem Umstande her, daß die chemische Wärmeregulierung der Tiere abgenommen hatte, denn dann hätte in den Versuchen, in denen wir Morphin-Scopolamin vor Kühlungsbeginn gaben (B), und in denen der Stoffwechsel während des Kühlens dauernd zunahm, auch die Körpertemperatur zunehmen müssen, und wir hätten am Kühlungsende keine solch außergewöhnlich niedrige Temperatur messen können.

Auf Grund unserer Versuche müssen wir demnach sagen: Während Morphin-Scopolamin den Grundstoffwechsel von Ratten nicht beeinflußt, vermag es die auf Abkühlung hin auftretende Stoffwechselerhöhung unzweifelhaft zentraler Herkunft, also den Reiz der Stoffwechselzentren, in hohem Maße herabzudrücken. Gleichzeitig mit dieser relativ kurzen Zeit anhaltenden Wirkung hat es auch eine andere dauerhaftere, die Wärmeabgabe steigernde Wirkung, die wahrscheinlich darauf beruht, daß Scopolamin, ähnlich Atropin, die Hautgefäße erweitert.

Zusammenfassung.

1. 2—5 mg/100 g Morphin gemeinsam mit 0,2—0,5 mg/100 g Scopolamin gegeben beeinflußt nur wenig den O_2-Verbrauch normaler Ratten. Der Stoffwechsel nimmt im Mittelwerte um 10% ab.

2. Morphin-Scopolaminnarkose drückt das Wärmeregulierungsvermögen der Tiere bedeutend herab, die auf Kältewirkung hin auftretende Stoffwechselsteigerung wird geringer als normal, und die Tiere kühlen stark ab.

3. Morphin-Scopolamin lähmt einerseits elektiv die hypothalamischen Stoffwechselzentren, wodurch die Wärmeproduktion abnimmt, andererseits steigert es zufolge Erweiterung der Hautgefäße erheblich die Wärmeabgabe.

Literatur.

[1] Schneiderlin: Münch. med. Wschr. **1903**, 371. — [2] Hauckold, E.: Z. exper. Path. u. Ther. **7**, 743 (1910). — [3] Bermann, R.: Z. exper. Path. u. Ther. **18**, 67 (1916). — [4] Lewin, R.: Z. exper. Path. u. Ther. **18**, 61 (1916). — [5] Friedberg, Ch. K.: Arch. exper. Path. (D.) **160**, 276 (1931). — [6] Méhes, J.: Arch. exper. Path. (D.) **142**, 309 (1929). — [7] Cosentino: Ronas Ber. **129**, 222. — [8] Gottlieb, R.: Arch. exper. Path. (D.) **26**, 417 (1890). — [9] Issekutz, B. v. u. B. v. Issekutz jun.: Arch. exper. Path. (D.) **199**, 306 (1942).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Peter-Pázmány-Universität Budapest.

Über die Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf die zentral und peripher bedingte Stoffwechselsteigerung.

Von

B. v. Issekutz jun. und A. Murányi.

(Eingegangen am 20. Dezember 1943.)

Wie wir in der vorausgehenden Mitteilung[1] nachwiesen, drückt Morphin-Scopolaminnarkose den Grundstoffwechsel der Tiere (Ratten) nur wenig, um etwa 10% herab, wogegen sie das chemische Wärmeregulierungsvermögen der Tiere sehr erheblich beeinträchtigt. Sie verhindert also den auf Abkühlungswirkung hin auftretenden Reiz des wärmeregulierenden Zentrums und die darauf beruhende Stoffwechselsteigerung. Wie wir im Nachstehenden nachweisen, ist diese Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose dermaßen elektiv und nur auf das zentrale Nervensystem beschränkt, daß es mit ihrer Hilfe verhältnismäßig leicht gelingt, die zufolge ihrer unmittelbaren Wirkung auf die Zellen deren O_2-Verbrauch steigernden Pharmaca von jenen zu unterscheiden, die durch Reizung der Stoffwechselzentren den Stoffwechsel erhöhen.

Wir führten die Versuche mit Ephedrin, p-Oxyphenylisopropylamin (Pulsoton), Adrenalin und 2,4-Dinitrophenol durch. Wir maßen den O_2-Verbrauch 150–200 g schwerer weißer Ratten mittels des von uns bereits beschriebenen manometrischen Gerätes. Zwecks Vermeidung der von Erregung herrührenden Stoffwechselsteigerung spritzten wir den Tieren vor den Versuchen 0,08 g/100 g Urethan subcutan ein, was den O_2-Verbrauch nicht beeinflußt und die genaue Bestimmung des Grundstoffwechsels ermöglicht. Das Ablesen der Manometer erfolgte in 10minütigen Intervallen, und die Tiere bekamen nach 5—6 gut übereinstimmenden Meßergebnissen das untersuchte Mittel sowie gleichzeitig Morphin-Scopolamin. Da die Wirkung der letzteren an Ratten verhältnismäßig kurze Zeit anhält, erwies es sich nicht als zweckmäßig, Morphin-Scopolamin vorher zu geben und nach Entwicklung ihrer Wirkung das untersuchte Pharmakon anzuwenden. Wir gaben die Injektionen den Tieren, ohne sie aus dem Gerät herauszunehmen, es war also nicht erforderlich, deshalb die Messungen zu unterbrechen.

A. Ephedrin.

Wie seit langem bekannt, hat Ephedrin nebst einer sympathicomimetischen Wirkung auch eine Reizwirkung auf das zentrale Nervensystem. So wies Airila[2] bereits 1913 nach, daß die Narkose mit Chloralhydrat eingeschläferter Tiere durch Ephedrin oberflächlicher gemacht werden kann. Morita[3] schloß aus der Tatsache, daß es gelingt, mittels Chloralhydrat narkotisierte hirnrindenlose Kaninchen durch Ephedrin aufzuwecken, daß seine Wirkung (wie auch die von Tetrahydronaphthylamin) eine subcorticale sei. Royle[4] beobachtete von Ephedrin Steigerung der Decerebrationsstarre, Himsey, Ranson und Zeiss[5] die Verstärkung des Extensorreflexes dekapitierter Hunde, Jacobsen und Kennard[6] aber Steigerung der Reflexreizbarkeit rückenmarkdurchtrennter Affen; also wirkt Ephedrin nicht allein subcortical, reizt vielmehr auch das Rückenmark.

Nach den Messungen von Issekutz und Harangozó-Oroszy[7] üben 0,01 bis 0,05 mg/100 g Ephedrin auf den Stoffwechsel mit Urethan narkotisierter Ratten eine noch sehr unsichere Wirkung aus, 0,05—0,2 mg/100 g pflegen den O_2-Verbrauch bereits bedeutend zu steigern, 0,5—1,0 mg/100 g aber verursachen eine 80—150%ige Stoffwechselsteigerung.

Zwecks Entscheidung, ob Ephedrin die Stoffwechselzunahme durch Reizung der Stoffwechselzentren bewirkt, untersuchten wir, inwieweit sich diese Wirkung durch Morphin-Scopolaminnarkose verhindern läßt.

Wir führten die Versuche an 41 Ratten durch. Wir teilten die Tiere in 2 Gruppen. Gruppe 1 erhielt außer Urethan nur 0,2—1,0 mg/100 g Ephedrin. Alsbald nach der Injektion begann der O_2-Verbrauch der Tiere zu steigen, und da er etwa 1 Stunde nach Einspritzung sein Maximum erreichte, trugen wir diesen Wert in die Tabelle ein. Solche mit Urethan narkotisierte und mit Ephedrin behandelte Tiere liegen ruhig und weisen außer schnellem Atem keinerlei Erregungssymptome auf; die Stoffwechselerhöhung ist also sicherlich nicht das Ergebnis einer motorischen Erregung. Die gleichfalls mit Urethan narkotisierten Tiere der Gruppe 2 erhielten gleichzeitig mit Ephedrin 2 mg/100 g Morphin + 0,2 mg/100 g Scopolamin.

Tabelle 1 veranschaulicht die Versuchsergebnisse. Aus ihr geht hervor, daß der O_2-Verbrauch der nur mit Ephedrin behandelten Tiere der Gruppe 1 in allen Fällen eine bedeutende, 26—112% (im Durchschnitt 61,8%) betragende Steigerung erfuhr. Von den Ratten der Gruppe 2, die also Morphin-Scopolamin + Ephedrin bekamen, stieg bei 6 Tieren der Stoffwechsel überhaupt nicht an, nahm vielmehr ab, bei 8 Ratten ging die Zunahme nicht über 20% hinaus, und nur bei 2 Tieren war der O_2-Verbrauch erheblicher gesteigert. Im Mittelwert der 22 Versuche betrug die Stoffwechselerhöhung 12,2%. Daß zwischen den beiden Gruppen ein wesentlicher Unterschied besteht, d. h. daß *Morphin-Scopolaminnarkose die Ephedrinwirkung in hohem Maße hemmte*, erweist die sign. Differenz von 5,41.

Die Hemmungswirkung der Morphin-Scopolaminnarkose kommt am besten gegenüber kleinen Ephedringaben (0,2 mg) zur Geltung.

Tabelle I. *Der Einfluß der Morphin-Scopolaminnarkose auf die stoffwechselsteigernde Wirkung des Ephedrins. Sauerstoffverbrauch in cm³ je Stunde.*

Dosis des Ephedrins	O_2-Verbrauch		Veränderung	Dosis		O_2-Verbrauch		Veränderung
	Normal	60 Min. nach Ephedrin		Ephedrin	Morphin-Scopolamin	Normal	60 Min. nach Ephedrin und Morphin-Scopolamin	
mg/100 g			%	mg/100 g				%
0,2	175	220	26	0,2	2 0,2	269	235	−13
0,2	124	162	31	0,2	2 0,2	231	182	−21
0,2	230	304	32	0,2	2 0,2	154	173	+12
0,2	162	255	57	0,2	2 0,2	286	210	−27
0,2	166	289	74	0,2	2 0,2	217	225	+ 4
0,5	134	180	34	0,5	2 0,2	225	233	+ 4
0,5	160	204	27	0,5	1 0,1	120	136	+13
1,0	216	336	56	1,0	2 0,2	157	240	+50
1,0	152	272	79	1,0	2 0,2	137	206	+48
1,0	166	298	79	1,0	2 0,2	122	166	+36
1,0	150	210	52	1,0	2 0,2	146	101	−30
1,0	162	320	98	1,0	2 0,2	149	179	+20
1,0	163	346	112	1,0	2 0,2	188	171	− 9
1,0	232	319	38	1,0	2 0,2	160	176	+15
1,0	192	346	81	1,0	2 0,2	173	238	+44
1,0	161	314	102	1,0	2 0,2	163	175	+ 7
1,0	137	194	46	1,0	2 0,2	134	224	+67
1,0	159	245	54	1,0	2 0,2	140	203	+44
1,0	195	377	93	1,0	2 0,2	168	206	+22
				1,0	2 0,2	159	174	+ 9
				1,0	2 0,2	154	206	+34
	Mittelwerte:		61,8					12,2

In den mit solchen durchgeführten je 5 Versuchen steigerte nämlich Ephedrin für sich allein den O_2-Verbrauch im Mittel um 44%, wogegen diese Gabe in Morphin-Scopolaminnarkose sich als völlig unwirksam erwies, indem anstatt O_2-Verbrauchszunahme Abnahme von 9% im Mittel erfolgte, was der Stoffwechselwirkung der Morphin-Scopolaminnarkose entspricht. Es gelang vielfach nicht, die Wirkung von 1 mg Ephedrin völlig zu verhindern. Dies kann seinen Grund darin haben, daß Ephedrin in solch großen Gaben bereits auch unmittelbar auf die Zellen wirkt, oder aber die von uns angewandte Morphin-Scopolaminnarkose war für die Aufhebung der zentralen Reizwirkung des Ephedrins nicht genügend stark.

B. Pulsoton (p-Oxyphenylisopropylamin).

Bezüglich der Wirkung von Pulsoton auf das zentrale Nervensystem liegen keine Daten vor; Untersuchungen wurden lediglich mit dem ihm nahestehenden Veritol (p-Oxyphenylisopropylmethylamin) durchgeführt.

Stumpf[8] gelang es in vielen Fällen, narkotisierte Individuen durch Veritol aufzuwecken. Lindner[9] beobachtete dagegen an mit Avertin und Pernocton eingeschläferten Mäusen keine solche Weckwirkung. Koll und Koll-Schröder[10] fanden, daß Veritol die propriozeptiven Reflexe decerebrierter Tiere steigert, auf die exterozeptiven Reflexe aber keine Wirkung hat.

Nach den Versuchen von Issekutz und Harangozó-Oroszy[7] heben 0,005 bis 0,01 mg/100 g Pulsoton den O_2-Verbrauch mit Urethan narkotisierter Tiere wesentlich, und größere Gaben bewirken in der Regel eine 50—170%ige Stoffwechselzunahme. Veritol wirkt ähnlich, doch etwas schwächer.

Wir führten die Untersuchungen an 23 Ratten durch und wandten eine solche Gabe (0,01—0,1 mg/100 g) Pulsoton an, die den Stoffwechsel sicher und stark erhöht. Auch diese Tiere erhielten vorher 0,08 je 100 g Urethan. Die Versuche werden in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2. *Die Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf die stoffwechselsteigernde Wirkung des Pulsotons.*

Dosis des Pulsotons	O_2-Verbrauch cm³/Std.		Veränderung	Dosis		O_2-Verbrauch cm³/Std.		Veränderung
	Normal	Nach Pulsoton		Pulsoton	Morphin-Scopolamin	Normal	Nach Pulsoton und Morphin-Scopolamin	
mg/100 g			%	mg/100 g				%
0,1	113	181	60	0,1	2 0,2	178	126	—29
0,1	188	254	35	0,1	2 0,2	231	233	0
0,05	177	233	32	0,1	2 0,2	223	134	—40
0,1	187	254	36	0,1	2 0,2	182	157	—13
0,1	172	251	49	0,1	2 0,2	262	215	—18
0,2	176	316	80	0,1	2 0,2	195	135	—31
0,2	150	263	75	0,1	1,5 0,15	170	173	— 2
0,5	169	282	67	0,2	2 0,2	212	181	—15
0,5	155	252	63	0,5	1,5 0,15	283	295	+ 4
0,5	199	358	80	0,5	1,5 0,15	230	326	+41
1,0	130	294	126	1,0	1,5 0,15	172	218	+49
				1,0	3 0,3	174	124	—29
	Mittelwerte:		64					6,9

Aus ihr geht hervor, daß Pulsoton den O_2-Verbrauch jener Tiere (11 Ratten), die nur Urethan bekamen, in allen Fällen erheblich, um 36—126%, erhöhte. Mittelwert 64%. Bei den (12) Tieren, die außer Urethan auch 1,0, 2,0 oder 3,0 mg/100 g Morphin + 0,1, 0,2 oder 0,3 mg/100 g Scopolamin erhielten, unterblieb die Pulsotonwirkung fast völlig, und nur große Dosen (0,5—1,0 mg/kg) vermochten eine Stoffwechselsteigerung zu bewirken. Bei 8 von den 12 Ratten nahm der O_2-Verbrauch ab, bei 2 Tieren war er unverändert und lediglich bei 2 Ratten nahm er zu. Der Mittelwert beträgt 6,9%. Es besteht ein unzweifelhafter Unterschied zwischen den beiden Gruppen, denn die sign. Differenz ist 6,07.

Daraus kann man also die Folgerung ableiten, daß *die stoffwechselsteigernde Wirkung des Pulsotons Ergebnis eines zentralen Reizes ist, der bereits durch kleine Morphin- und Scopolamingaben leicht verhindert werden kann.*

C. Adrenalin.

Bezüglich der Wirkung des Adrenalins auf das Nervensystem sind die Schrifttumsangaben nicht so einheitlich wie hinsichtlich der beiden vorhergehenden Verbindungen.

Nach zahlreichen Untersuchern (Marazzi[11], Schweitzer und Wright[12], Bonvallet und Minz[13], Oti[14], Floyd und Keele[15], Hall und Goldstone[16]) setzt Adrenalin die Reizübertragung in den Synapsen herab, hemmt die Reflexe, ermäßigt den Muskeltonus. Nach Lissák, Piribauer und Martin[17] steigert Adrenalin in ausgesprochener Weise den Patellarreflex. Auch Spychala[18] sah meistens Zunahme des Patellarreflexes, beobachtete jedoch zuweilen auch mit dem Maximum der Blutdruckerhöhung zusammenfallende Hemmung.

Die Wirkung des Adrenalins auf den Stoffwechsel bildete den Gegenstand zahlreicher Untersuchungen*. Nach den meisten Untersuchern nimmt der Stoffwechsel der Tiere zunächst ab, darauf tritt eine längere Zeit andauernde Zunahme auf. Nach Issekutz und Harangozó-Oroszy[7] ist die Wirkung von 25—35 γ/100 g subcutanem Adrenalin ungewiß, doch bewirken 40—50 γ/100 g bereits eine 30—50%ige Stoffwechselsteigerung, der öfters, aber nicht immer, eine 10—30minütige Senkung voraufgeht.

Nach Cori und Cori[19] ist — wie von Hegnauer und Cori[20] nachgewiesen — Ursache der O_2-Verbrauchszunahme, daß auf Adrenalinwirkung hin sich im Muskel Hexosemonophosphat bildet und der Zerfall des Glykogens zu Milchsäure eine Beschleunigung erfährt. Diese Milchsäure wird von der Leber zum Teil zu Glykogen aufgebaut, zum andern Teil verbrannt, weshalb hauptsächlich der O_2-Verbrauch der Leber zunimmt. So fanden Cori und Buchwald[21], daß beim rückenmarklosen Frosch nach Leberexstirpation die stoffwechselsteigernde Wirkung des Adrenalins wesentlich geringer ist. Dementsprechend sahen Jitariu, Koch und Otto[22] Wärmeproduktionserhöhung der Leber durch Adrenalin. Dies würde es erklären, weshalb die meisten Untersucher den O_2-Verbrauch der Muskulatur nicht gesteigert fanden (Canner und Griffith[23], Kramer und Schäfer[24], Issekutz jun.[25]).

Für die Entscheidung der Frage, ob die stoffwechselsteigernde Wirkung zentralen oder peripheren Ursprungs ist, sind die mit Gewebsschnitzen und Brei durchgeführten Untersuchungen wegen der vielen Widersprüche nicht verwertbar. So steigert Adrenalin nach Ahlgren[26], Abderhalden und Gellhorn[27], Euler[28] den O_2-Verbrauch der Leber-, Muskel- bzw. Oberhautschnitte, wogegen Grafe[29], Reinwein und Singer[30], Ellinger[1] bzw. Yamakita[32] eine solche Wirkung nicht beobachteten. Besser verwertbar sind jene Versuche, in denen die Adrenalinwirkung an narkotisierten Tieren untersucht wurde. So hemmt Amytalnarkose nach Hunt und Bright[33] die Wirkung nicht, nach Issekutz aber vermögen weder tiefe Narkose noch Dekapitation die stoffwechselsteigernde Wirkung des Adrenalins aufzuheben. Cori und Buchwald[21] sowie Issekutz, Tukats-Leinzinger und Issekutz[34] fanden, daß Adrenalin den O_2-Verbrauch des Frosches in ausgeprägter Weise erhöht (wohl mußten weitaus größere Dosen

* Schrifttum s. Trendelenburg: Die Hormone, Bd. 1, S. 296. Berlin 1929, sowie Kiese: Jkurse ärzt. Fortbildg. 38, H. 8 (1942).

gegeben werden als bei Säugern), obgleich nach letzteren Verfassern das zentral angreifende β-Phenylisopropylamin (Aktedron) völlig wirkungslos bleibt. Auf Grund von alledem scheint es, daß die stoffwechselsteigernde Wirkung des Adrenalins überwiegend eine periphere, unmittelbar auf die Zellen ausgeübte ist.

Die Ergebnisse unserer an 32 Tieren durchgeführten Versuche sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Eine Gruppe der mit Urethan eingeschläferten

Tabelle 3. *Der Einfluß der Morphin-Scopolaminnarkose auf die stoffwechselsteigernde Wirkung des Adrenalins.*

Dosis Adrenalin	O_2-Verbrauch cm³/Std.		Veränderung	Dosis		O_2-Verbrauch cm³/Std.		Veränderung
	Normal	60 Min. nach Adrenalin		Adrenalin	Morphin-Scopolamin	Normal	60 Min. nach Adrenalin und Morphin-Scopolamin	
mg/100 g			%	mg/100 g				%
0,075	260	373	44	0,1	1 0,1	167	262	57
0,1	124	160	30	0,1	2 0,2	160	149	— 7
0,1	132	191	45	0,1	1,5 0,15	158	233	47
0,1	162	217	35	0,1	2 0,2	173	208	20
0,2	182	329	68	0,2	2 0,2	236	246	4
0,2	157	358	128	0,1	2 0,2	95	133	40
0,2	167	286	72	0,15	2 0,2	230	293	28
0,2	230	433	88	0,15	2 0,2	275	205	—25
0,15	145	180	24	0,15	2 0,2	192	210	9
0,2	139	240	73	0,1	2 0,2	135	198	47
0,18	147	282	92	0,2	2 0,2	200	258	29
0,12	180	218	20	0,2	2 0,2	149	229	54
				0,2	2 0,2	122	275	43
				0,2	2 0,2	172	265	54
				0,2	2 0,2	126	180	43
				0,2	2 0,2	197	287	46
				0,2	2 0,2	164	349	113
				0,2	2 0,2	253	351	39
				0,2	2 0,2	224	282	26
				0,2	2 0,2	146	254	74
	Mittelwerte:		59,9					37,1

Ratten erhielt 0,1—0,2 mg/100 g Adrenalin subcutan. Der O_2-Verbrauch erreichte im allgemeinen in der 60. Min. das Maximum; wenngleich auch die Streuung sehr groß ist, so hob dennoch eine Gabe dieser Größe den Stoffwechsel in allen Fällen in ausgeprägter Weise um 20—128%. Mittelwert 59,9%. In die eine Seite der Tiere der anderen Gruppe spritzten wir die gleiche Menge Adrenalin, und damit letzteres die Resorption nicht hemme, injizierten wir in die andere Seite 2 mg/100 g Morphin + 0,2 mg/100 g Scopolamin. Von 20 auf diese Weise behandelten Tieren nahm der Stoffwechsel bei 2 Ratten ab, bei 2 Tieren lag die Steigerung unter 20%, bei den übrigen 16 Ratten

zwischen 20 und 113%. Der Mittelwert betrug 37,1%. Die sign. Differenz (1,9) ist erheblich geringer als in den Versuchen mit Ephedrin oder Pulsoton. Berücksichtigt man auch, daß — wie die Kontrollversuche erweisen — solche Mengen Morphin + Scopolamin den Stoffwechsel urethanisierter Ratten schon für sich allein um etwa 10% herabzudrücken vermögen, so muß gesagt werden, daß *Morphin-Scopolaminnarkose die stoffwechselsteigernde Wirkung von Adrenalin überhaupt nicht oder nur in unerheblicher Weise beeinflußt.* Dies beweist aber unseres Erachtens, daß Adrenalin im Gegensatz zu Ephedrin bzw. Pulsoton überwiegend peripher wirkt.

D. 2,4-Dinitrophenol.

2,4-Dinitrophenol hat überhaupt keine zentrale Wirkung, vermindert vielmehr eher die Reflexübertragung im Wärmeregulationszentrum, indem es ähnlich Adrenalin das von Kälte verursachte Muskelzittern aufzuheben vermag (Hall, Crimson und Chamberlain [35]).

Seine Wirkung auf den Stoffwechsel bildete den Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (Schrifttum s. Ronzoni und Ehrenfest [36]), die einheitlich zum dem Ergebnis führten, daß α-Dinitrophenol den Stoffwechsel der Tiere rasch und stark erhöht. Spätere Untersuchungen erwiesen gleichfalls eine starke O_2-Verbrauchssteigerung der isolierten überlebenden Gewebe oder Gewebsbreie auf Dinitrophenolwirkung hin, so daß deren periphere Lokalisation keinem Zweifel unterliegt.

Nach Ronzzoni und Ehrenfest [36] sowie Cori und Cori [19] steigert Dinitrophenol die Hydrolyse der Adenosintriphosphorsäure und die Bildung des Hexosediphosphats, das unter aëroben Verhältnissen verbrennt und das Anwachsen des Muskelstück-O_2-Verbrauchs auf das 6—8fache bewirkt. Es spielt sich also der gleiche Vorgang wie bei Kontraktion mit dem Unterschiede ab, daß während bei letzterer das Gleichgewicht zwischen Energie und Phosphat sich wieder herstellt, der Vorgang auf Dinitrophenolwirkung hin so lange dauert, bis der Phosphokreatingehalt vollkommen erschöpft ist. Die dazwischen frei werdende Energie wird vom Organismus verschwendet.

Danach darf Morphin-Scopolaminnarkose, wenn sie tatsächlich nur die im Hypothalamus befindlichen Zentren lähmt, die Zellatmung selbst aber nicht beeinflußt, die Wirkung von α-Dinitrophenol nicht herabmindern.

Tabelle 4 veranschaulicht die Versuchsergebnisse. Ein Teil der urethanisierten (5) Tiere erhielt nur Dinitrophenol (1,0 – 1,5 mg/100 g), wovon wir in allen Fällen eine ausgeprägte, doch nicht überaus hohe Stoffwechselzunahme sahen. Diese betrug 28 – 56%, im Mittelwerte 43,2%. Der anderen Gruppe gaben wir gleichzeitig mit Dinitrophenol auch 2 mg/100 g Morphin + 0,2 mg/100 g Scopolamin subcutan. Der O_2-Verbrauch der Tiere erfuhr auch hierbei in allen Fällen eine Steigerung, die sich zwischen 12 und 93% bewegte. Mittelwert 44,4%.

Offenbar besteht zwischen den beiden Gruppen keinerlei Unterschied, was sich im übrigen auch in der geringen sign. Differenz (= 0,14) ausdrückt. Morphin-Scopolamin beeinflußt also erwartungsgemäß die Dinitrophenolwirkung überhaupt nicht.

Tabelle 4. *Der Einfluß der Morphin-Scopolaminnarkose auf die stoffwechselsteigernde Wirkung des α-Dinitrophenols.*

Dosis Dinitrophenol mg/100 g	O_2-Verbrauch cm³/Std. Normal	O_2-Verbrauch cm³/Std. 60 Min. nach Dinitrophenol	Veränderung %	Dosis Dinitrophenol mg/100 g	Dosis Morphin-Scopolamin mg/100 g	O_2-Verbrauch cm³/Std. Normal	O_2-Verbrauch cm³/Std. 60 Min. nach Dinitrophenol und Morphin-Scopolamin	Veränderung %
1	204	298	42	0,7	2 0,2	197	222	12
1	149	206	38	0,7	2 0,2	137	187	41
1	142	222	56	1,0	2 0,2	217	302	39
1	188	286	52	1,0	2 0,2	187	280	49
1.5	221	298	28	1,0	2 0,2	160	220	43
				1,0	2 0,2	151	212	41
				1,0	2 0,2	144	209	45
				1,5	2 0,2	166	281	70
				1,5	2 0,2	184	269	46
				1,0	2 0,2	146	282	93
				1,0	2 0,2	205	266	25
				1,0	2 0.2	216	278	29
	Mittelwerte:		43,2					44,4

Aus vorstehenden Versuchen kann die Folgerung abgeleitet werden, daß Morphin-Scopolaminnarkose, die die hypothalamischen Zentren elektiv lähmt, geeignet für die Entscheidung der Frage ist, ob die Wirkung eines stoffwechselsteigernden Pharmakons zentralen oder peripheren Ursprungs ist. Aus dem Umstande, daß es möglich war, die Wirkung von Ephedrin bzw. Pulsoton völlig zu verhindern, kann geschlossen werden, daß diese ihre Wirkung durch Reizung des zentralen Nervensystems ausüben. In scharfem Gegensatz dazu hat Morphin-Scopolamin auf die durch Dinitrophenol hervorgebrachte Stoffwechselsteigerung keinerlei Einfluß, was die periphere Herkunft unzweifelhaft beweist. Die Adrenalinwirkung konnte gleichfalls nicht gehemmt werden, doch wurde sie — wie aus der Tabelle hervorgeht — von Morphin-Scopolaminnarkose in vielen Fällen abgeschwächt. Dies läßt vielleicht darauf schließen, daß außer der in der von Adrenalin bewirkten Stoffwechselsteigerung unzweifelhaft im Übergewicht vorhandenen unmittelbaren Zellwirkung auch ein erheblich schwächerer zentraler Reiz eine Rolle spielt, der durch Morphin-Scopolamin aufhebbar ist.

Zusammenfassung.

1. 2 mg/100 g Morphin + 0,2 mg/100 g Scopolamin, die den O_2-Verbrauch normaler Ratten nur wenig herabdrücken, hemmen völlig die stoffwechselsteigernde Wirkung von Ephedrin bzw. Pulsoton.

2. Die gleiche Narkose reduziert die Wirkung von Adrenalin nur wenig, beeinflußt die von Dinitrophenol aber überhaupt nicht.

3. Morphin-Scopolaminnarkose lähmt elektiv die hypothalamischen Zentren und ermöglicht dadurch die Absonderung der den Stoffwechsel zentral steigernden Gifte (Ephedrin, Pulsoton) von den unmittelbar auf die Zelloxydation wirkenden Mitteln (Adrenalin, α-Dinitrophenol).

Literatur.

[1] Issekutz, B. v. jun. u. J. Gergely: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **205**, S. 399 (1948). — [2] Airila, Y.: Arch. internat. Pharmacodynam. **23**, 453 (1913). — [3] Morita, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **78**, 218 (1915). — [4] Royle: Med. J. Australia **1**, 740 (1929). — [5] Himsey, Ranson and Zeiss: J. comp. Neur. (Am.) **53**, 401 (1931). — [6] Jacobsen, C. F. and M. A. Kennard: J. Pharmacol. (Am.) **49**, 362 (1933). — [7] Issekutz, B. v. u. M. Harangozó-Oroszy: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **201**, 346 (1943). — [8] Stumpf, A.: Münch. med. Wschr. **1937**, 1869. — [9] Lindner, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 444 (1937). — [10] Koll, W. u. M. Koll-Schröder: Klin. Wschr. **1938**, 380. — [11] Mazzari, A. S.: J. Parmacol. (Am.) **65**, 395 (1939); **67**, 321 (1939). — [12] Schweitzer, A. and S. Wright: J. Physiol. (Brit.) **88**, 476 (1937). — [13] Bonvallet, M. et B. Minz: C. r. soc. Biol. **124**, 735 (1937). — [14] Oti, Y.: Okayama-Igakkai-Zasshi **52**, 2389, 2591 (1940). — [15] Floyd and Keele: J. Physiol. (Brit.) **87**, 93 (1936). — [16] Hall, V. E. and P. B. Goldstone: J. Pharmacol. (Am.) **68**, 247 (1940). — [17] Lissák, K., K. Piribauer u. J. Martin: Tisza I. Tud. Társ. Munkái **7**, 48 (1941). — [18] Spychala, V.: Z. exper. Med. **83**, 192 (1932). — [19] Cori, G. T. and C. F. Cori: J. biol. Chem. (Am.) **116**, 119 (1936). — [20] Hegnauer, A. H. and G. T. Cori: J. biol. Chem. (Am.) **105**, 691 (1934). — [21] Cori, C. F. and K. W. Buchwald: Proc. Soc. exper. Biol a. Med. (Am.) **28**, 104. — [22] Jitariu, P., A. Koch u. U. Otto: Pflügers Arch. **245**, 317 (1941). — [23] Canner, L. and F. R. Griffith jr.: Amer. J. Physiol. **125**, 699 (1939). — [24] Kramer, K. u. K. E. Schäffer: Sitzgsber. Heidelbg. Akad. Wiss., Math.-naturw. Kl. **1939**, Abt. 5. — [25] Issekutz, B. v. jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 313 (1941). — [26] Ahlgreen, G.: Skand. Arch. Physiol. (D.) **46**, 467, 471 (1926). — [27] Abderhalden, E. u. E. Gellhorn: Pflügers Arch. **212**, 523 (1926). — [28] Euler, U. v.: Pflügers Arch. **217**, 699 (1927). — [29] Gräfe, E.: Dtsch. med. Wschr. **1925**, 640. — [30] Reinwein, H. u. W. Singer: Biochem. Z. **197**, 152 (1928). — [31] Ellinger, Ph.: Z. physiol. Chem. **119**, 11 (1922) — [32] Yamakita, M.: Tôhoku J. exper. Med. (Jap.) **3**, 567 (1922). — [33] Hunt, H. B. and E. M. Bright: Amer. J. Physiol. **77**, 353 (1926). — [34] Issekutz, B. v. jun., M. Tukats-Leinzinger u. A. M. v. Issekutz jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **201**, 334 (1943). — [35] Hall, V. E., I. M. Crimson and P. E. Chamberlain: J. Pharmacol. (Am.) **59**, 193. — [36] Rozzoni, E. and E. Ehrenfest: J. biol. Chem. (Am.) **115**, 749 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Peter-Pázmány-Universität Budapest.

Antagonismus zwischen Thyroxin und Morphin-Scopolamin.

Von

B. v. Issekutz jun., P. Genersich und E. Komlós.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Dezember 1943.)

Unsere bisherigen Untersuchungen[1, 2] erwiesen, daß man die den Stoffwechsel warmblütiger Tiere steigernden Pharmaca auf Grund ihres Verhaltens in bezug auf die Morphin-Scopolaminnarkose in 2 Gruppen teilen kann. In die eine gehören diejenigen, die auf sämtliche Zellen des Organismus wirkend, die Funktion gewisser Enzymsysteme steigernd, den O_2-Verbrauch der Zellen und damit den des ganzen Organismus erhöhen. In die andere Gruppe sind die Mittel einzureihen, die die Erregbarkeit des zentralen Nervensystems erhöhen und die an der Hirnbasis befindlichen wärme- und stoffwechselregulierenden sympathischen Zentren reizend, die Zelloxydationen mittelbar steigern, in ähnlicher Weise wie z. B. der O_2-Verbrauch der Warmblüter auf Kältewirkung hin eine Erhöhung erfährt.

Während Morphin-Scopolaminnarkose die Wirkung der in die erste Gruppe gehörenden Mittel nicht oder nur wenig beeinflußt, wird die Wirkung von gemeinsam gegebenen 2—5 mg/100 g Morphin und 0,2—0,5 mg/100 g Scopolamin (bei Ratten), gleich wie die auf Kältewirkung hin auftretende Stoffwechselsteigerung[1], völlig aufgehoben oder wenigstens stark herabgemindert. Nach unseren bisherigen Untersuchungen gehören in die erste Gruppe α-Dinitrophenol und Adrenalin, in die zweite Gruppe aber β-Phenylisopropylamin (Aktedron), p-Oxyphenylisopropylmethylamin (Veritol), p-Oxyphenylisopropylamin (Pulsoton) und Phenylmethylaminopropanol (Ephedrin[2]).

Unsere nächste Aufgabe war es, mit Hilfe dieser Methode dem viel umstrittenen Angriffspunkt des Thyroxins näher zu kommen.

Wir führten die Versuche an Kaninchen und Hunden durch. Den O_2-Verbrauch der Kaninchen maßen wir nach der bereits früher beschriebenen manometrischen Methode[3] bei 28° C. Wir lasen die Manometer in Abständen von je 10 Min. ab, und unter Hinweglassung der eventuell hervorspringenden Werte berechneten wir den Mittelwert des O_2-Verbrauchs der Tiere während 10 Min. In den Tabellen sind diese Mittelwerte angeführt. Den Stoffwechsel der Hunde führten wir mittels des gleichfalls früher beschriebenen[4] modifizierten Knipping-schen Kastenapparates durch. Das Tier kommt in einen in einen Wasserthermostaten eintauchenden, oben luftdicht verschlossenen etwa 100 l

fassenden Behälter, durch den eine Lamellenpumpe Luft durchtreibt. Diese gelangt nach dem Passieren eines mit Natronkalk beschickten Gefäßes wieder in den Behälter zurück. Der verbrauchte Sauerstoff wird über einen Gasometer hinweg aus einem Sauerstoffsack ersetzt. Das Ablesen des O_2-Verbrauchs erfolgte in Abständen von je $^1/_2$ Stunde.

Während wir bei unseren früheren Versuchen Ratten anwandten, benutzten wir bei diesen Untersuchungen Kaninchen, was folgenden Grund hat. Anläßlich unserer älteren Thyroxinversuche beobachteten wir vielfach, daß die mit Thyroxin behandelten Tiere ungemein empfindlich gegen alle Eingriffe sind, die den stark erhöhten Stoffwechsel plötzlich herabdrücken. Erfahrungsgemäß ist die Entwicklung der Wirkung stoffwechselsteigernder Mittel wesentlich leichter zu verhindern als den bereits gesteigerten O_2-Verbrauch zum Abfall zu bringen. Da indessen zufolge langsamer Entwicklung der Thyroxinwirkung nur letzterer Weg offenbleibt, mußten wir zu unseren weiteren Versuchen eine Tierart wählen, die gegenüber Morphin-Scopolamin weniger empfindlich ist als die Ratte. Von diesem Gesichtspunkte aus erschien das Kaninchen am besten geeignet, das bekanntlich Solanazeen-Alkaloiden gegenüber besonders resistent ist.

Zunächst mußte festgestellt werden, ob Morphin-Scopolaminnarkose den Grundstoffwechsel der Kaninchen beeinflußt. Die Untersuchungen wurden teils an normalen, teils an mit 1 g/kg Urethan narkotisierten Tieren durchgeführt. Wir lasen den O_2-Verbrauch in Intervallen von je 10 Min. ab, setzten die Messungen solange fort, bis wir wenigstens 6 gut übereinstimmende Werte erhielten und gaben sodann subkutan 0,01—0,04 g/kg Morphin und 0,001—0,004 g/kg Skopolamin. Tabelle 1 veranschaulicht die Mittelwerte des O_2-Verbrauchs der Tiere während 10 Min.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die auf Wirkung von Morphin-Scopolaminnarkose hin auftretende Stoffwechseländerung sich zwischen + 14 und —20% bewegt, und zwar beobachteten wir in 9 Fällen eine um 10% größere, in 8 Fällen aber eine um 10% geringere Abnahme oder gar eine Zunahme. Auf Morphin-Scopolaminwirkung hin verminderte sich der Grundstoffwechsel der Kaninchen im Mittel um —8,2%.

Nachdem wir uns also davon überzeugten, daß Morphin-Scopolamin in dieser Dosierung den O_2-Verbrauch normaler Kaninchen ebenso wenig beeinflußt wie den Grundstoffwechsel normaler Ratten, unterzogen wir die Kaninchen der Thyroxinbehandlung. Die Tiere erhielten während 5—6 Tagen 0,5 mg/kg Thyroxin; als ihr Stoffwechsel sich bereits erheblich über dem normalen bewegte, wurde der eigentliche Versuch durchgeführt. In einem großen Teile der Versuche gaben wir den mit Thyroxin behandelten Kaninchen zunächst 0,8—1,0 g/kg Urethan

Tabelle 1.

Gabe des Morphins und Scopolamins		O_2-Verbrauch		Änderung	Bemerkungen
		vor	nach		
g/kg		Morphin-Scopolamin		%	
0,04	0,004	187	190	+ 2	
0,02	0,003	199	195	— 2	
—	0,003	240[1]	215	—10	[1] Gemessen in Urethannarkose (1 g/kg)
0,01	0,003	225[1]	200	—11	
—	0,003	215[1]	196	— 9	
0,02	0,003	189	216	+14	
—	0,003	202[1]	176	—13	
0,04	0,003	263	260	— 1	
0,01	0,003	134[1]	124	— 7	
0,01	0,003	140	140	0	
0,01	0,005	178[1]	150	—16	
0,01	0,003	126[1]	110	—13	
0,01	0,003	160[1]	128	—20	
0,01	0,003	188[1]	160	—15	
0,01	0,003	116[1]	104	— 7	
0,01	0,003	150[1]	126	—15	
0,01	0,003	140[1]	117	—16	
			Mittelwert:	— 8,2	

subkutan, um die eventuell von Thyroxin bewirkte Erregung aufzuheben. Die Tiere erhielten Morphin-Scopolamin nach Bestimmung des O_2-Verbrauchs. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 enthalten. Aus dieser sind ersichtlich die Werte des Grundstoffwechsels der Tiere, des O_2-Verbrauchs nach Thyroxin, der Morphin-Scopolamingabe und des O_2-Verbrauchs der Kaninchen, 30 Min. nach der Injektion.

Wir führten die Versuche an 17 Tieren durch, an denen wir im ganzen in 37 Fällen die Morphin-Scopolaminwirkung untersuchten. Wie aus der Tabelle hervorgeht, war der Grund-O_2-Verbrauch der Kaninchen im Mittelwerte 174 cm^3 je 10 Min. Auf Thyroxinwirkung hin stieg er auf 259 cm^3 an, erhöhte sich also im Mittelwerte um 48,9%. In 17 Fällen nahm auf Morphin-Scopolaminwirkung hin der O_2-Verbrauch auf den erhöhten Stoffwechsel berechnet um mehr als 20% ab, in 9 Fällen bewegte sich die Reduktion zwischen 20 und 10%, und nur in 8 Fällen war sie geringer als 10%. Der während Morphin-Scopolaminwirkung gemessene O_2-Verbrauch betrug im Mittelwerte 206 cm^3 je 10 Min., was nur 19,2% über dem Grundstoffwechsel liegt. Daß diese Senkung als effektiv betrachtbar ist, beweist die Tatsache, daß die aus den Werten vor und nach Morphin-Scopolaminbehandlung auf Grund der quadratischen Abweichungen berechnete signifikante Differenz 5,45 ist.

Diese Versuche beweisen also, daß Morphin-Scopolaminnarkose den auf Thyroxinwirkung hin gesteigerten O_2-Verbrauch in der Mehrzahl

Tabelle 2.

O_2-Verbrauch in cm³/10 Min. vor Thyroxinbehandlung	O_2-Verbrauch in cm³/10 Min. nach Thyroxinbehandlung	Gabe des Morphin-Scopolamins in mg/kg		O_2-Verbrauch cm³/je 10 Min. nach Morphin-Scopolamin	Abweichung des O_2-Verbrauchs von der Norm vor Morphin-Scopolamin %	Abweichung des O_2-Verbrauchs von der Norm nach Morphin-Scopolamin %	Bemerkungen
157	218	20	2	214	+ 39	+36	
215	284	30	6	228	+ 32	+ 6	
208	343	30	6	214	+ 65	— 4	
127	176	15	3	98	+ 39	—23	
184	259	15	3	198	+ 41	+ 8	
196	310[1]	—	3	186	+ 58	— 5	[1] Gemessen in Urethannarkose (0,8 g/kg)
199	344	20	3	330	+ 74	+66	
199	333	—	3	140	+ 67	—30	
224	310[1]	—	3	189	+ 38	—16	
224	270	20	3	245	+ 21	+ 9	
216	353	20	3	342	+ 63	+58	
216	340[1]	—	3	318	+ 57	+47	
216	308[1]	10	3	199	+ 38	— 8	
216	299[1]	10	3	212	+ 38	— 1	
205	280[1]	10	3	205	+ 37	0	
220	360[1]	—	3	315	+ 64	+43	
220	349	40	6	308	+ 59	+40	
220	297	10	3	239	+ 39	+ 9	
132	170[1]	10	3	115	+ 29	—13	
116	208[1]	10	3	170	+ 79	+46	
116	196[1]	10	3	190	+ 69	+64	
116	190	10	3	150	+ 64	+29	
116	233	10	3	190	—101	+64	
116	196	10	3	197	+ 69	+70	
116	198[1]	10	5	173	+ 71	+40	
116	183	10	5	149	+ 58	+31	
170	238[1]	10	3	147	+ 40	—14	
170	210[1]	10	3	186	+ 24	+11	
170	253[1]	20	6	214	+ 49	+26	
170	257[1]	20	6	206	+ 51	+21	
170	248[1]	20	6	238	+ 46	+40	
170	252[1]	20	6	201	+ 48	+18	
124	187[1]	20	6	187	+ 51	+51	
156	183[1]	20	6	137	+ 17	—12	
Mittelwerte:							
174	259			206	+48,9	+19,2	

der Fälle fast auf den Spiegel des Grundstoffwechsels herabzudrücken vermag. Die Wirkung hält etwa 1—2 Stunden an, sodann nimmt der O_2-Verbrauch wieder zu, so daß der Versuch nach 1—2 Tagen an dem gleichen Tiere wiederholt werden kann. Den Verlauf eines solchen Versuches zeigt Abb. 1.

Das 2800 g schwere Kaninchen stand vom 28. Oktober bis 11. Januar im Versuche. Sein normaler O_2-Verbrauch betrug 200 cm³ je 10 Min., der auf Wirkung von 0,02 g/kg Morphin und 0,002 g/kg Scopolamin im ganzen um 5% auf 190 cm³ sank. In den nächsten Tagen unterzogen wir das Tier der Thyroxin-

behandlung, wodurch der Stoffwechsel am 7. November auf 310 cm³ anstieg, sich also 55% über dem Normalwert befand; nunmehr gaben wir 1,0 g/kg Urethan subkutan, das jedoch den O_2-Verbrauch nicht beeinflußte, obgleich das Kaninchen, die Rückenlage erduldend, in oberflächlicher Narkose war. Dagegen senken darauffolgend eingespritzte 3 mg/kg Scopolamin den Stoffwechsel rasch (binnen 70 Min.) auf den Wert vor der Thyroxinbehandlung. Nach dem Aufhören der Wirkung erhöht sich wieder der O_2-Verbrauch, und 2 Tage später verbraucht das Tier noch immer 310 cm³ Sauerstoff je 10 Min.; nunmehr gegebene 0,01 g/kg Morphin + 0,003 g/kg Scopolamin bewirken einen abermaligen starken Abfall fast auf den Normalwert. Am 17. Dezember hat die Thyroxinwirkung bereits aufgehört, und der O_2-Verbrauch des Kaninchens beträgt 226 cm³ je 10 Min. Dementsprechend ist auch die stoffwechselvermindernde Wirkung von Morphin-Scopolamin wesentlich schwächer, und der O_2-Verbrauch sinkt wieder auf den Ausgangswert von 195/200 cm³ je 10 Min. Im Januar 1943 behandelten wir das Tier abermals mit Thyroxin, hoben den O_2-Verbrauch auf 280 cm³, gaben 1,0 g Urethan, das nach vorübergehender Abnahme eine geringe Zunahme bewirkte, wogegen auf Wirkung des nunmehr eingespritzten Morphin-Scopolamins hin der O_2-Verbrauch wieder auf 200 cm³ fiel. Zum Beweise dafür, daß auf Morphin-Scopolaminwirkung hin nicht die Zellatmung gelähmt wurde, gaben wir 30 γ Adrenalin, das — wie aus den Untersuchungen Cori's bekannt — unmittelbar auf die Zellen wirkend durch Beschleunigung der Hexosemonophosphatbildung den Stoffwechsel steigert. Auf Adrenalinwirkung hin stieg der O_2-Verbrauch des Kaninchens binnen 40 Min. von 204 auf 282 cm³, also um 38%, an.

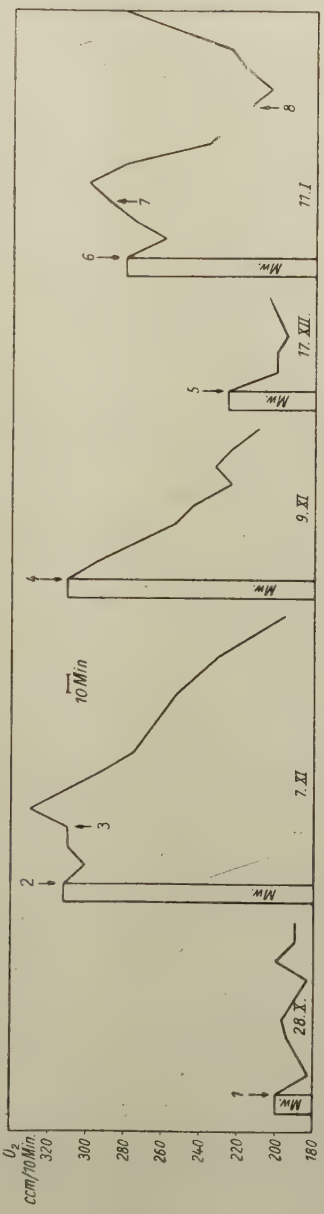


Abb. 1. Kaninchen: Mw. Mittelwerte. Pfeile mit 1: 20 mg Morphin (Mo.) + 2 mg Scopolamin (Sc.); 2 und 6: 1 g Urethan; 3: 3 mg Sc.; 4, 5 und 7: 10 mg Mo. + 3 mg Sc. (stets je Kilogramm); 8: 0,03 mg Adrenalin. — 7. 11., 9. 11. und 11. 1. unter Thyroxinbehandlung.

In einigen Fällen maßen wir auf dem Höhepunkte der Morphin-Scopolaminwirkung Blutdruck und Atmungsvolumen der Tiere. Den Blutdruck fanden wir stets normal, das Atmungsvolumen befand sich teils über, teils unter dem Normalen, doch vermochten wir eine

Parallelität zwischen Stoffwechselsteigerung und Atmungsänderung nicht nachzuweisen.

Es mag noch der Einwand auftauchen, daß auf Thyroxinwirkung hin Muskelzittern auftrete, das wohl von Urethan nicht beeinflußbar sei, von Morphin-Scopolaminnarkose aber aufgehoben werden könne, was die stoffwechselvermindernde Wirkung erklären würde. Auch dies überprüften wir auf die Weise, daß wir die Nadelelektroden eines Siemensschen Elektrokardiographen in den Musc. gluteus der Kaninchen stachen, um so die mit Zittern einhergehenden starken Aktionsströme zu registrieren. Diese Methode ist zum Nachweise des mit dem Frieren verbundenen Muskelzitterns geeignet. Bei thyroxinbehandelten, jedoch mit Urethan narkotisierten Tieren beobachteten wir indessen kein solches Zittern.

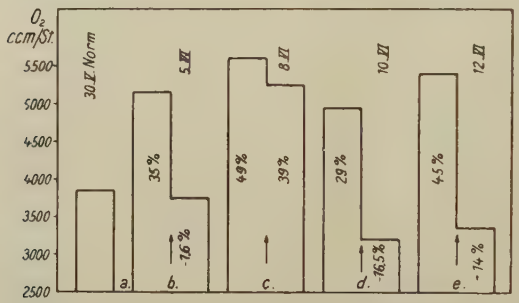


Abb. 2. Hund. *a* 5 Tage nach Rückenmarksdurchschneidung; *b* links: nach Thyroxinbehandlung; rechts: desgleichen unter der Wirkung von 5 mg Mo. + 0,5 Sc. je Kilogramm; *d* und *e* dasselbe wie *b*; *c* rechts: 0,8 g Urethan je Kilogramm.

Um aber die auf Muskelzittern ausgeübte Wirkung unzweifelhaft auszuschließen, führten wir einige Versuche an Hunden durch, deren Rückenmark in der Höhe des I. Dorsalsegmentes durchschnitten war. Ein solcher Versuch wird von Abb. 2 veranschaulicht.

Die Bestimmung des O_2-Verbrauchs erfolgte in halbstündigen Perioden mittels des in der Einleitung beschriebenen Apparates. 5 Tage nach der Operation war der O_2-Verbrauch des Hundes 3850 cm³ je Stunde und stieg nach 5tägiger Thyroxinbehandlung auf 5150 cm³ je Stunde. Nunmehr gaben wir 5 mg/kg Morphin + 0,5 mg/kg Scopolamin subkutan, worauf der Stoffwechsel 30 Min. später bereits den Wert vor der Thyroxinbehandlung erreichte und sogar um 1,6% darunter sank. 3 Tage später betrug die O_2-Aufnahme 5600 cm³ je Stunde, lag also um 49% über dem Ausgangswert. An diesem Tage gaben wir zur Kontrolle 0,8 g/kg Urethan, wodurch der O_2-Verbrauch nur unerheblich sank. An den folgenden 4 Tagen wiederholten wir 2mal den Morphin-Scopolaminversuch, beide Male mit dem gleichen Erfolg: der gesteigerte Stoffwechsel nahm stark ab, indem er in einem Falle auf einen um 16,5%, im anderen auf einen um 14% unter dem Normalen liegenden Wert sank.

Aus all diesen Versuchsergebnissen läßt sich die Schlußfolgerung ableiten, daß Morphin-Scopolaminnarkose, die man aus unseren früheren Versuchen als die hirnbasalen Stoffwechselzentren lähmende Kombination kennenlernte, den O_2-Verbrauch thyroxinbehandelter Tiere, wenn auch nicht in jedem Falle, so doch in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche, wesentlich stärker herabmindert als den

normaler Tiere. Dies bedeutet aber unseres Erachtens, daß in der stoffwechselsteigernden Wirkung des Thyroxins die Erregung der Stoffwechselzentren, wenn auch nicht ausschließlich, so doch in hohem Maße eine bedeutende Rolle spielt, und da Morphin-Scopolamin diese Erregung elektiv aufzuheben vermag, sinkt der Stoffwechsel unter Thyroxin stärker als der normale.

Besprechung.

Wie in unserer vorangehenden Mitteilung nachgewiesen, senkt Morphin-Scopolaminnarkose den O_2-Verbrauch normaler oder mit Urethan oberflächlich eingeschläferter Tiere nur um wenige (8—10) Prozent, wogegen sie die Erregung der Stoffwechselzentren leicht aufzuheben bzw. ihre Entwicklung zu verhindern vermag, gleichgültig ob sie physiologischer Herkunft wie z. B. bei Abkühlung oder Ergebnis einer toxischen Wirkung (Pulsoton, Ephedrin) ist.

Dies zu erklären, sehen wir zweierlei Möglichkeiten, die jedoch einander nicht ausschließen, vielmehr treffen wahrscheinlich beide zu und bestehen nebeneinander.

Es ist seit langem bekannt, daß sich im Hypothalamus sympathikusartige Stoffwechselzentren befinden, deren Erregung mit Steigerung des O_2-Verbrauchs einhergeht, und die in der Kälteabwehr, in der chemischen Wärmeregulierung eine führende Rolle spielen (H. H. Meyer). Zahlreiche bekannte Versuche beweisen, daß bei der auf Kältewirkung hin eintretenden Stoffwechselsteigerung das sympathische Nervensystem mitwirkt. So weiß man, daß auf Abkühlung hin der Adrenalingehalt des Blutes ansteigt, die Lebertemperatur höher geht, Reaktionen, die ohne Mitwirkung des vegetativen Nervensystems nicht denkbar sind. Doch gibt es auch Pharmaca, die diese Zentren reizen; so vermindert sich nach Drake[5, 6] und Mitarb. wesentlich die pupillenerweiternde Wirkung von Ephedrin, Oxyephedrin nach Durchschneiden der postganglionären Sympathikusfasern des Auges, obgleich Adrenalin gerade an solchem Auge besonders stark mydriatisch wirkt. Offenbar beruht demnach die Pupillenerweiterung auf einem Reize der sympathischen Zentren. Issekutz und Dirner[7] wiesen nach, daß Curarin eine durch Thyroxin bewirkte Stoffwechselsteigerung nicht herabdrückt, ein Beweis dafür, daß ein großer Teil der Stoffwechselzunahme nicht auf einem Reize der motorischen Nerven, also etwa auf Muskelzittern oder Tonussteigerung beruht. Da es jedoch bereits mit kleinen Gaben von Morphin und Scopolamin gelingt, jede auf Reiz der hypothalamischen Zentren beruhende Stoffwechselsteigerung stark zu reduzieren oder völlig zu verhindern, so erscheint es wahrscheinlich, daß Morphin Scopolamin diese sympathikusartigen Zentren elektiv lähmt.

Daneben muß indessen auch mit einer anderen Möglichkeit gerechnet werden. Bekanntlich haben die proprioceptiven Muskelreflexe sowie die extrapyramidalen (rubro-vestibulospinalen) Bahnen die Aufgabe, den physiologischen Muskeltonus aufrechtzuerhalten. Aus den Untersuchungen von Gaylor und Carmichael[8] wurde auch bekannt, daß zum Auslösen des auf Kältewirkung hin zustande kommenden Zitterns Intaktsein der pyramidalen Bahnen nicht erforderlich ist, denn es kommt über den extrapyramidalen, wahrscheinlich den rubro- und den tectospinalen Bahnen zustande und unterbleibt nur dann, wenn diese unterbrochen sind. Andererseits ist es von Scopolamin bekannt, daß es gerade für die Kerne der extrapyramidalen Bahnen große Affinität besitzt; somit ist es leicht verständlich, daß die chemische Wärmeregulierung, in der anfänglich Steigerung des Muskeltonus, späterhin aber Zittern eine bedeutende Rolle haben, in hohem Maße Abbruch erleidet. Nach den Untersuchungen von Friedberg[9] bzw. Méhes[10] übt Scopolamin besonders auf den Hypothalamus eine lähmende Wirkung aus; berücksichtigt man noch, daß nach neueren Versuchen[11] die extrapyramidalen Bahnen zum Teil im Hypothalamus enden, in einem Gebiete also, in dem auch die Wärmeregulierungs- und die Stoffwechselzentren lokalisiert sind, dann wird die Wirkung der Morphin-Scopolaminnarkose auf die Wärmeregulierung noch viel verständlicher. Von Ephedrin ist bekannt, daß es ein subkortikal wirkendes Reizmittel ist und sowohl Decerebrationsstarre wie Rückenmarksreflexe steigert; über Veritol[12] weiß man gleichfalls, daß auf seine Wirkung hin gerade die für die Aufrechterhaltung des Muskeltonus notwendigen proprioceptiven Reflexe lebhafter werden. Es ist deshalb möglich, daß die stoffwechselsteigernde Wirkung der Phenylaminopropane selbst bei den mit Urethan narkotisierten und völlig unbeweglich gemachten Tieren zum Teil auf Steigerung des Muskeltonus beruht, und daß es deshalb der Morphin-Scopolaminnarkose gelingt, seine Entwicklung vollständig zu verhindern.

Gleichviel zu welcher Anschauung man sich auch bekennt, so viel steht fest, daß man den Angriffspunkt jener auf den Stoffwechsel wirkenden Pharmaca, deren Wirkung durch Morphin-Scopolaminnarkose zu verhindern ist, im zentralen Nervensystem zu suchen hat (Ephedrin, Pulsoton, Thyroxin), wogegen man von solchen Mitteln, deren Wirkung auf diese Weise nicht oder nur wenig beeinflußbar ist, sagen muß, daß sie peripher wirken und die Zelloxydation unmittelbar steigern (Adrenalin, α-Dinitrophenol).

Zusammenfassung.

1. Der O_2-Verbrauch normaler, mit Urethan eingeschläferter Kaninchen wird von Morphin-Scopolaminnarkose nur wenig, im Mittel um 8%, herabgedrückt.

2. Der Stoffwechsel thyroxinierter Kaninchen dagegen kann durch Morphin-Scopolamin stark reduziert werden.

3. Beim rückenmarkdurchtrennten und somit unbeweglich gemachten Hunde wird Thyroxinwirkung von Morphin-Scopolaminnarkose vorübergehend ebenfalls herabgemindert.

4. Unseres Erachtens beweist dies, daß Thyroxin durch Reizung der Stoffwechselzentren den Stoffwechsel der Tiere steigert.

Literatur.

[1] Issekutz, B. v. jun. u. J. Gergely: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **205**, S. 399 (1948). — [2] Issekutz, B. v. jun. u. A. Murányi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **205**, S. 406 (1948). — [3] Issekutz, B. v. u. B. v. Issekutz jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 306 (1942). — [4] Issekutz, B. v., M. Leinzinger u. B. v. Issekutz jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 673 (1937). — [5] Drake, M. E., R. John, F. Renshaw, F. S. Modern and C. H. Thienes: J. Pharmacol. (Am.) **66**, 251 (1939). — Drake, M. E., R. John, F. Renshaw and C. H. Thienes: J. Pharmacol. (Am.) **61**, 494 (1939). — [7] Issekutz, B. v. u. Z. Dirner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 685 (1937). — [8] Uprus, V., G. B. Gaylor and E. Arnold Carmichael: Brain **58**, 220 (1935). — [9] Friedberg, Ch. K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 276 (1931). — [10] Méhes, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **142**, 309 (1929). — [11] Bartorelli, C.: Arch. Fisiol. (It.) **42**, 384 (1942). — [12] Koll, W. u. M. Koll-Schröder: Klin. Wschr. **1938**, 380.

Aus dem Pharmakologischen-Pharmakognostischen Institut der ehemaligen Deutschen Karls-Universität Prag (Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky).

Über die Wirkung von embryonalem Herzextrakt auf Herz- und Nebennierenhypertrophie im Schwimmversuch.

Nach Versuchen von Heinz Possel.

Von

Gustav Kuschinsky.

(Eingegangen am 25. November 1944.)

Aus den Arbeiten von Törö[1] ist bekannt, daß embryonaler Herzextrakt Corhomon direkt an den Zellkernen angreift, daß sich unter seiner Wirkung der Zellteilungsrhythmus des älteren Tieres zu dem des neugeborenen zurückbildet, der Herzmuskel unter der Wirkung des Extraktes an Kernen reicher wird. Diese Vorgänge bedeuten eine Verjüngung des Herzmuskels. Korenyi und Hajdu[2] haben gezeigt, daß Ratten, die in einer Lauftrommel täglich erschöpfende Arbeit leisten, diese weit besser vertragen, wenn ihnen Corhormon injiziert wird. Im einzelnen ergab sich bei den Kontrolltieren (Ratten ohne Corhormon) eine Herzhypertrophie von 18% und eine solche der Nebennieren von 92%. Die Corhormontiere zeigten keine Herzhypertrophie und eine Nebennierenhypertrophie von nur 44%. Gegenstand dieser Arbeit war die Frage, ob das im Gegensatz zum Laufen in kürzerer Zeit erschöpfende Schwimmen dieselben Ergebnisse zeitigen würde. Belastungen durch Schwimmen werden zur Auswertung von Nebennierenrindenhormon ausgeführt. Kirch[3] und Mitarbeiter haben gleichfalls durch Schwimmen eine Herzhypertrophie bei Ratten erzeugt. Man kann die langwährende Belastung durch den Laufversuch wohl am besten mit der Arbeit eines Langstreckenläufers vergleichen, während die Schwimmethode am ehesten einem Vergleich mit einem Kurzstreckenläufer entspricht. Vor dem eigentlichen Hauptversuch wurde ein Vorversuch mit gewöhnlichen schwarzen Ratten durchgeführt, der lediglich die Herzhypertrophie und das Ausmaß derselben durch täglich erschöpfende Schwimmleistungen zeigen sollte. Dabei ergab sich, daß die kurzdauernden Schwimmleistungen zu stärkerer Herzhypertrophie führten als gleichzeitig im Institut an demselben Tiermaterial durchgeführte ungefähr zweistündige Belastung im Laufrad.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten seit über 45 Generationen ingezüchtete fahlsepiaweiß gescheckte männliche Ratten im Gewicht von 130—285 g. 30 Tiere wurden

in 3 Gruppen zu je 10 Ratten eingeteilt, in der gleichen Weise gehalten und ernährt. Gruppe 2 und 3 vollbrachten tägliche Schwimmleistungen, die bis zum Erschöpfungszustand durchgeführt wurden. Den Ratten der Gruppe 3 wurde täglich 30 Min. vor Beginn des Schwimmens 1 ccm Corhormon subkutan eingespritzt. Das Präparat Corhormon wurde von der Fa. Chemiewerk Homburg in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Um schon bei Beginn des Versuches die Sicherheit zu haben, daß das Corhormon tatsächlich wirksam ist, wurde bereits 4 Tage vor dem Versuch mit den Injektionen begonnen. Gruppe 2 unterlag ebenfalls den Belastungen durch das tägliche Schwimmen, ohne Corhormon zu bekommen. Gruppe 1 diente zur Kontrolle, ohne irgendwelchen Belastungen ausgesetzt zu sein. Der Versuch erstreckte sich durch 18 Tage. Vor Beginn, in der Mitte und am Ende wurde das Gewicht der Ratten festgelegt. Das eigentliche Schwimmen ging in 5 Aquarien vor sich. 2 Tiere schwammen zu gleicher Zeit, weil es sich im Vorversuch herausstellte, daß dies die geeignete Möglichkeit ist, einen wirklichen Erschöpfungszustand herbeizuführen. Nach dem täglichen Schwimmen wurden die Tiere abfrottiert. Nach Abschluß des Versuches wurden die Ratten getötet, nach Bestimmung des Endgewichtes wurde das Herz herausgenommen, der Venensinus und die Herzohren entfernt. Sodann wurden, um eventuell vorhandene Blutkoagula zu entfernen, nach Einstich an der Herzspitze, Ventrikel und Arterien mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült. Auf der Torsionswaage wurde das Gewicht bestimmt. Die Nebennieren und Gastrocnemii wurden gleichfalls sorgfältig präpariert und die Organe beider Seiten jeweils zusammen gewogen.

Versuchsergebnisse.

Die Tiere der Gruppe 3 schwammen frisch bis zum voraus bestimmten Termin. Ihr Gewicht nahm 16 g im Durchschnitt zu. Es zeigten sich kaum Ermüdungserscheinungen. Die Schwimmleistungen waren vornehmlich in der 2. Hälfte der Versuchsperiode durchschnittlich

Tabelle 1. *Kontrolltiere.*
(Körpergewichte in g, Organgewichte in mg.)

Körpergewichte		Herz			Beide Nebennieren			Beide Gastrocnemii		
Anfang	Ende	absolut	%-A*	%-E**	absolut	%-A	%-E	absolut	%-A	%-E
195	215	625	321	291	25	13	12	1005	515	467
185	215	737	398	343	40	22	19	1005	543	467
215	235	700	326	298	40	19	17	1017	473	433
190	200	645	339	323	46	24	23	999	526	500
275	285	940	342	330	62	23	22	1030	375	361
145	140	548	378	391	36	25	26	840	578	600
210	254	767	365	302	43	20	17	1022	487	402
160	165	555	347	336	40	25	24	869	543	527
Durchschnittsgewicht je 100 g Ratte			350	323		21	20		494	455
Mittlerer Fehler des Mittelwertes . .			11	11		1,4	1,7		23	26

* %-A = je 100 g Anfangsgewicht berechnet.
** %-E = je 100 g Endgewicht.

Tabelle 2. *Schwimmer ohne Corhormon.*
(Körpergewichte in g, Organgewichte in mg.)

Körpergewichte		Herz			Beide Nebennieren			Beide Gastrocnemii		
Anfang	Ende	absolut	%-A	%-E	absolut	%-A	%-E	absolut	%-A	%-E
200	179	775	388	418	50	25	28	1000	500	553
115	119	633	550	532	46	40	39	857	745	720
215	194	947	439	487	64	30	33	1010	470	521
235	219	984	414	440	66	28	30	1007	429	461
170	145	630	371	434	43	25	30	970	571	669
190	187	804	423	430	60	26	27	965	508	516
150	132	668	445	506	49	33	37	980	653	742
Durchschnittsgewicht je 100 g Ratte			427	463		30	32		533	577
Mittlerer Fehler des Mittelwertes . . .			21	16		2	1,7		42	42
%-Differenz zwischen Tabelle 2 und 1 . .			22	43		42	60		8	27

Tabelle 3. *Schwimmer mit Corhormon.*
(Körpergewichte in g, Organgewichte in mg.)

Körpergewichte		Herz			Beide Nebennieren			Beide Gastrocnemii		
Anfang	Ende	absolut	%-A	%-E	absolut	%-A	%-E	absolut	%-A	%-E
205	226	630	307	283	29	14	13	1005	490	445
170	197	720	429	365	49	29	25	875	515	444
220	220	696	316	316	35	16	16	1010	459	459
195	235	650	333	277	45	23	19	997	511	467
130	140	549	422	392	32	25	23	877	675	626
225	245	760	342	310	43	19	18	1025	455	418
180	195	545	303	279	36	20	18	977	543	501
150	145	582	388	401	36	24	25	875	571	591
Durchschnittsgewichte je 100 g .			348	321		21	19		518	479
Mittlerer Fehler des Mittelwertes. . . .			18	18		1,7	1,5		25	26
%-Differenz zwischen Tabelle 3 und 1 . .			—	1		—	—		5	5

10 Min. besser als die der Gruppe 2. Sie betrug dann im Mittel 28 Min. Es wurde eine Herzhypertrophie von 1% gefunden. Bei den Nebennieren fand sich keine Hypertrophie. Die Gastrocnemii hypertrophierten um 5% (s. dazu Tabelle 3). Gruppe 2 wurde durch das tägliche Schwimmen wesentlich stärker beeinträchtigt als Gruppe 3. Die Erschöpfungszustände waren teilweise hochgradig. Nur durch Wärmebehandlung gelang es, in diesen Fällen die Ratten am Leben zu erhalten. Auch war es nötig, des öfteren Ruhetage einzulegen. Die Schwimmleistung betrug bei den Tieren dieser Gruppe in der

2. Hälfte der Versuchsperiode durchschnittlich 18 Min. Das Gewicht nahm im Mittel um 14 g ab. Die Herzhypertrophie ist wesentlich größer als bei den Tieren der Gruppe 3, sie beträgt 43%. Bei den Nebennieren fällt der Unterschied noch deutlicher ins Auge. Während sich bei Gruppe 3 keine Hypertrophie zeigte, beträgt sie hier 60%. Die Gastrocnemii hypertrophierten um 27% (s. Tabelle 2, Tabelle 1 enthält die Werte der Kontrolltiere). Während des Versuches gingen einige Tiere aus den Gruppen zugrunde. Aus Gruppe 1 und 3 starben aus unbekannten Gründen jeweils 2 Tiere, aus Gruppe 2 starben 3 Tiere. Die angegebene Herzhypertrophie bezieht sich auf das Körperendgewicht. Um dem Einwand zu begegnen, daß verschieden starke Körpergewichtsabnahmen zu einer scheinbaren Hypertrophie geführt hätten, wurden auch für das Körperanfangsgewicht die prozentualen Werte errechnet. Auch dann zeigte sich eine Hypertrophie, wenn auch geringeren Ausmaßes.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Aus den Versuchen geht hervor, daß die mit Corhormon behandelten Tiere täglich erschöpfende Belastungen besser vertragen, daß Ermüdungserscheinungen nicht eintreten und daß eine Gewichtsabnahme nicht stattfindet. Ihr Herz und ihre Nebennieren hypertrophieren nicht. Die nicht mit Corhormon behandelten Tiere zeigen dagegen eine hochgradige Erschöpfung, ihr Gewicht nimmt ab, Herz- und Nebennieren hypertrophieren bedeutend, obgleich diese Tiere in der 2. Hälfte der Versuchsperiode sogar weniger Arbeit geleistet haben als die behandelten Ratten. Damit ist erwiesen, daß Corhormon eine Hypertrophie verhindert. Wenn also der embryonale Herzextrakt in dieser Weise wirkt, dann vergrößert er die physiologische Anpassungsfähigkeit des Herzmuskels. Das leistungsfähigere Herz vermag somit den gesteigerten Bedarf des Kreislaufs in vollkommenerer Weise zu befriedigen. Dadurch wird erklärlich, daß sich die intermediären Stoffwechselprodukte in geringerem Maße im Herzmuskel anreichern, also ein geringerer Anreiz zur Herzhypertrophie gegeben ist. Zur Hypertrophie der Nebennieren und Gastrocnemii ist zu sagen, daß hier entweder extrakardiale Faktoren eine Rolle spielen, oder die geringere Hypertrophie der Nebennieren und des Skelettmuskels bei den Tieren der Gruppe 3 ist ebenfalls eine Folge der Herzwirkung und der reichlicheren Versorgung der Gewebe mit Sauerstoff über den Kreislauf. Die Herzhypertrophie ist in diesen Versuchen größer als bei den langdauernden Belastungen im Laufrad, während Nebennieren und Skelettmuskel dort stärker hypertrophieren. Dies weist darauf hin, daß das kurze Schwimmen für das Herz eine relativ größere Belastung bedeutet als langdauerndes Laufen. Corhormon kann aber auch diese stärkere Belastung kompensieren. Wegen

der geringen Tierzahlen mußten relativ große Ausschläge in den Werten erreicht werden, um ein gesichertes Ergebnis zu erhalten. Die für die Körperendgewichte gefundenen Differenzen der Herz- und Nebennierengewichte liegen außerhalb des Bereiches des 5fachen mittleren Fehlers der Differenz, sind also trotz der geringen Tierzahl statistisch gesichert. Das ist daraus zu erklären, daß es sich um lange ingezüchtete Ratten handelt. Die Differenz der Gastrocnemiigewichte ist nur als wahrscheinlich gesichert anzunehmen, die auf das Anfangsgewicht berechneten Differenzen ebenso, weil hier doch durch die Veränderungen der Körpergewichte während des Versuches zu große Schwankungen in die Berechnungsgrundlagen hineingekommen sind.

Zusammenfassung.

1. In Versuchen an männlichen Inzuchtratten wird gezeigt, daß die Tiere nach der Behandlung mit embryonalem Herzextrakt täglich erschöpfende Schwimmleistungen weitaus besser vertragen als unbehandelte Tiere.

2. Die unbehandelten Tiere zeigten eine erhebliche Herz- und Nebennierenhypertrophie, während sich bei den mit Corhormon behandelten Ratten keine Herz- und Nebennierengewichtszunahme fand. Auch die Hypertrophie der Gastrocnemii ist wahrscheinlich vermindert.

3. Corhormon steigert auch in dieser Versuchsanordnung, welche eine stärkere Herzbelastung darstellt als langdauerndes Laufen, das Leistungsvermögen des Herzens.

Literatur.

[1] Törö, I: Z. mikr.-anat. Forsch. **41**, 1 (1937). — Arch. exper. Zellforsch. **22**, 364 (1939). — [2] Korenyi, Z. u. Hajdu: Arch. exp. Path. (D.) **200**, 641 (1943). — [3] Kirch, E. u. W. Grünbauer: Beitr. path. Anat. **100**, 354 (1938). — Kirch, E. u. W. Nürnberger: Arch. Kreisl.forsch. **4**, 1 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut (Vorstand: Prof. Dr. W. Blume) und der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten (Vorstand: Prof. Dr. J. Wendlberger) der früheren Universität Graz.

Über die Resorption des Cibazols nach peroraler und rektaler Anwendung beim Menschen.

Von

W. Blume und W. Vogel.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. Januar 1945.)

In früheren Versuchen[1] an Kaninchen konnten wir feststellen, daß es möglich ist, mit Hilfe von Cibazol-Postonalsuppositorien annähernd dieselbe Resorption der Substanz vom Rektum aus zu erzielen, wie nach intramuskulärer Anwendung, wenn man die 4fache Dosis Cibazol in Zäpfchenform applizierte. Die im Blut ermittelten Cibazolkonzentrationen entsprachen dann einander bei den beiden Applikationsarten. Wie in der früheren Arbeit a. a. O. ausgeführt, kam man bei Versuchen am Menschen zueinander widersprechenden Ergebnissen. Weitere uns erst nachträglich bekannt gewordenen Untersuchungen am Menschen, von E. Strauss und Mitarbeiter[2], Heni und Hahn[3], Rieben[4] ergaben übereinstimmend, daß das Cibazol vom Rektum aus nur zu einem geringen Grade resorbiert wird, so daß die therapeutisch notwendigen Konzentrationen im Blut nicht erreicht werden. Die bedeutende Verschiedenheit dieser Ergebnisse und der unserer Kaninchenversuche bestimmte uns, die Resorption des Cibazols nach rektaler Applikation in Suppositorienform auch am Menschen zu studieren und mit der nach peroraler Anwendung zu vergleichen.

Versuchsanordnung.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an 35 männlichen Patienten der Grazer Universitäts-Hautklinik durchgeführt. Die Patienten waren meist wegen Gonorrhoe, einige wegen Lues bzw. wegen Hauterkrankungen in Behandlung. Ihr Alter betrug durchschnittlich 25 Jahre. 4 Patienten waren 30—34 und einer 48 Jahre alt. Die Patienten erhielten die übliche Krankenhauskost mit $1^1/_2$—2 Liter Flüssigkeit täglich. 1 Patient war vor dem Versuch bereits mit Sulfonamid behandelt worden, unser Versuch wurde daher in diesem Falle erst begonnen, als im Harn und Blut keine Spur der Substanz mehr nachzuweisen war.

Für die Eingaben per os wurden Cibazoltabletten zu 0,5 g verwendet. Zur rektalen Applikation dienten Suppositorien mit Cibazol und Postonal bzw. Kakaobutter. Die Cibazoltabletten sowohl wie die Cibazolsubstanz wurden uns von der Ciba-A.G., Berlin-Wilmersdorf, das Postonal von der Firma Bayer-I.G. Farbenindustrie zur Verfügung gestellt, wofür bestens gedankt sei. Die Kakaobutter stammte aus Beständen des Pharmakologischen Instituts.

Die Herstellung der Postonal-, aber auch der Kakaobuttersuppositorien erfolgte durch Gießen in der früher[1] beschriebenen Weise. Die Zäpfchen wogen 4 bzw. 4,8 g. Sie enthielten 1 bzw. 2 g Cibazol. Bei der Anwendung von 4 g Cibazol rektal wurden 2 Zäpfchen mit je 2 g Cibazol verabreicht.

In bestimmten, bei den Versuchsergebnissen näher angegebenen Zeiträumen wurden die Cibazolkonzentrationen im Blut und die mit dem Harn ausgeschiedenen Mengen der Substanz ermittelt. Die Bestimmung des Cibazols im Blut und im Harn erfolgte nach der Methode von Oesterheld [5], J. Druey und Oesterheld [6]. Die Blutentnahme geschah aus der Kubitalvene. Es wurden bei jeder einzelnen Analyse Doppelbestimmungen durchgeführt.

Zur kolorimetrischen Bestimmung des Cibazols diente das Photozellenkolorimeter von Huvemann. Näheres hierüber siehe frühere Arbeit Blume und Vogel a. a. O.

Im folgenden sind stets die Cibazolgesamtwerte = freie + gebundene Substanz angegeben. Die als Azetylderivat im Harn ermittelten Cibazolmengen betragen etwa 20%, im Blut waren sie vor allem beträchtlichen Schwankungen unterworfen. Sie konnten sich bis auf 100% und mehr der freien Substanz belaufen.

Versuchsergebnisse.

Zunächst wurden 6 Resorptionsversuche mit oraler Applikation des Cibazols durchgeführt, je einer mit 1 und 3 g, je zwei mit 2 und 10 g Cibazol. Sie sollten, ähnlich wie die früheren Versuche mit intramuskulärer Injektion von Cibazol am Kaninchen, als Maßstab dienen für die Beurteilung der Resorption der Substanz nach rektaler Anwendung. Beim Kaninchen wurde früher zur Vergleichung die Resorption nach intramuskulärer Injektion der Substanz herangezogen, da beim Kaninchen nach peroraler Anwendung ein nicht so gleichmäßiger Resorptionsverlauf zu erwarten war.

Im Harn wurden *nach Eingabe von 1 g Cibazol* per os die größten Mengen dieser Substanz während der 2. bzw. 3. Stunde nach der Applikation festgestellt. Sie betrugen 0,12 g 6 Stunden nach der Eingabe war etwa die Hälfte der ausgeschiedenen Gesamtmenge sezerniert. Nach 23 Stunden ließen sich noch genau meßbare Cibazolmengen im Harn ermitteln, während der Harn nach 30 Stunden von Cibazol frei war.

Die mit dem Harn ausgeschiedene Gesamtmenge, die Ausscheidungsgröße, belief sich auf 83,4% der eingegebenen. Die Ausscheidungsintensität, d. i. Ausscheidungsgröße: Ausscheidungsdauer betrug 0,036, d. h. es wurden durchschnittlich in der Stunde 0,036 g Cibazol mit dem Harn ausgeschieden.

Im Blut stieg die Cibazolkonzentration maximal auf 3,6 mg-% $2^1/_2$ Stunden nach der Eingabe, also etwa zu derselben Zeit, als auch die größten Mengen im Harn auftraten. Nach 6 Stunden wurden 2, nach 10 Stunden 0,65 mg-% gefunden, nach 24 Stunden war kein Cibazol mehr im Blut nachzuweisen.

Nach Eingabe von 2 und 3 g Cibazol per os wurden die größten stündlichen Mengen ebenfalls während der ersten 3 Stunden ausgeschieden. Die Hälfte der ausgeschiedenen Gesamtmenge war bei 2 g

nach 6, bei 3 g nach 12 Stunden sezerniert. 34 bzw. 36 Stunden nach der Applikation ließen sich noch genau meßbare Mengen ermitteln, nach 48 Stunden war der Harn in beiden Fällen von Cibazol frei. Die Ausscheidungsgröße betrug nach 2 und 3 g etwa 90%. Die Ausscheidungsintensität belief sich bei 2 g auf 0,049 bei 3 g auf 0,08 g.,

Die Cibazolkonzentrationen im Blut stiegen maximal auf 6,3 bis 9 mg-%. Sie betrugen also weniger als die doppelten bzw. dreifachen Werte, die im Maximum nach 1 g Cibazol im Blut erreicht wurden. Die Höchstwerte im Blut waren nach 1, 2 und 3 g etwa zur selben Zeit, also nach 2—3 Stunden nach der Eingabe, zu ermitteln. Nach 36 Stunden ließ sich im Blut kein Cibazol mehr nachweisen.

Nach 10 g Cibazol per os wurden die größten Mengen je Stunde zu sehr verschiedenen Zeiten ausgeschieden, in einem Fall zwischen der 2. und 6., im anderen erst nach 24 Stunden. Die Hälfte der ausgeschiedenen Gesamtmenge war bei beiden Versuchen erst nach der 24. Stunde sezerniert. Die Ausscheidungsgröße betrug in beiden Fällen 85—90%. Die Ausscheidungsintensität belief sich auf 0,08 bis 0,09, entsprach also der nach Eingabe von 3 g. Nach 96 Stunden = 4 Tagen ließen sich in beiden Fällen noch meßbare Cibazolmengen im Harn feststellen.

Im Blut waren die maximalen Konzentrationen annähernd 14 mg-%, noch nicht das Doppelte der Konzentrationen, die nach 3 g erreicht wurden, 2—3 Stunden nach der Eingabe zu verzeichnen. Anschließend erfolgt ein Abfall bis zur 6. Stunde auf etwa 10 mg-% und weiter bis zur 24. Stunde nach der Eingabe auf 4 mg-%. Es kreisen also größere Cibazolmengen längere Zeit im Blut als nach Dosen von 1, 2 und 3 g.

In Suppositorienform wurden 1 und 2 g Cibazol appliziert (in je 8 Versuchen). In je 6 Fällen diente Postonal, in je 2 Fällen Kakaobutter als Suppositorienmasse; ferner wurden 6 Versuche mit je 4 g Cibazol, 5 mit Postonal und 1 mit Kakaobutter als Suppositorienmasse angestellt.

Ein wesentlicher Unterschied der Resorption nach Anwendung von Kakaobutter bzw. Postonal als Suppositorienmasse war nicht festzustellen.

Die Ausscheidungskurven im Harn verliefen in allen Fällen flach ohne ein charakteristisches Maximum zu zeigen. Die Hälfte der ausgeschiedenen Gesamtmenge war nach 1 g nach etwa 24 Stunden, nach 2 g nach 24—36 Stunden, nach 4 g nach etwa 48—60 Stunden ausgeschieden. Die Ausscheidungsdauer belief sich bei 1 g auf 2—3, bei 2 g auf 3—$3^1/_2$, bei 4 g auf $4^1/_2$—5 Tage. Die Gesamtausscheidung im Harn, die Ausscheidungsgröße betrug 60—70%, nur ausnahmsweise wurden Werte über 70, bis zu 87% ermittelt. Die Ausscheidungsintensität ergab nach 1 g 0,01—0,013, nach 2 g 0,015—0,017, nach 4 g 0,019 bis 0,022, also nur verhältnismäßig geringe Unterschiede zwischen den

verschiedenen Dosen; aber auch mit 4 g Cibazol, *rektal* verabreicht, wurde die Ausscheidungsintensität nach Eingabe von 1 g Cibazol *per os* nicht erreicht.

Entsprechend dem flachen, sich lang hinziehenden Verlauf der Ausscheidungskurve waren auch die Konzentrationen an Cibazol *im Blut* gering: Bei rektaler Applikation von 1 g Cibazol in Suppositorienform wurden nach 2—3 Stunden maximal 0,5—1,0 mg-% im Blut festgestellt, nach 24 Stunden noch 0,1—0,35 mg-%, durchschnittlich waren 0,18 mg-% nachzuweisen.

Tabelle 1.

Dosis	Nach welcher Zeit nach der Eingabe war die Hälfte der Gesamtmenge ausgeschieden?	Nach welcher Zeit nach der Eingabe noch meßbare Menge im Blut?	Ausscheidungsgröße	Ausscheidungsintensität
g	Stunden	Stunden	%	
		per os:		
1	6	23	etwa 83	0,036
2	6	34	90	0,049
3	12	36	90	0,08
10	24	96	85—90	0,08—0,09
		rektal:		
1	24	48— 72	60	0,01 —0,013
2	24—36	72— 84	Maxim. 87	0,015—0,017
4	48—60	108—120		0,019—0,022

Bei Anwendung von 2 g Cibazol stieg die Cibazolkonzentration im Blut maximal auf annähernd das Doppelte, auf 0,85—2,2 mg-% 2—3 Stunden nach der Eingabe. 24 Stunden nach der Eingabe betrugen die Cibazolwerte im Blut 0,15—0,5 mg-%.

Nach 4 g Cibazol, rektal in Suppositorienform appliziert, belief sich die maximale Konzentration im Blut, die erst nach 4 Stunden erreicht wurde, auf 1,5—3,4 mg-%. Es waren also nicht die doppelten Werte der maximalen Konzentrationen nach 2 g festzustellen. Nach 24 Stunden zeigte sich ein Cibazolkonzentration im Blut von 0,6 bis 1,0 mg-% durchschnittlich von 0,8 mg-%.

Die erhaltenen Daten sind auf der Abbildung und der Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Wie aus der Abb. 1 hervorgeht, gelingt es bei peroralen Anwendung des Cibazols die Resorption erheblich zu steigern. Bei Eingabe sehr großer Dosen, wie 10 g, treten allerdings Übelkeit und Erbrechen auf, die man jedoch durch Eingabe von 2 mal 3 Tabletten Peremesin zu 0,1 g verhüten kann.

Bei *rektaler* Applikation des Cibazols ist die Steigerungsmöglichkeit der Resorption durch Erhöhung der Dosis viel mehr begrenzt. Selbst nach Anwendung von 4 g werden keine therapeutisch brauchbaren

Cibazolkonzentrationen im Blut erreicht. Einer weiteren Erhöhung der Dosis begegnen technischen Schwierigkeiten. Die Suppositorien werden infolge Schleimhautreizung ausgestoßen, bevor sie geschmolzen sind.

Bemerkenswert ist noch die auffallende Tatsache, daß bei unseren Versuchen Patienten, die nach intravenöser Injektion von 50—100 E Pyrifer fieberten, große Cibazoldosen sehr gut vertrugen, während bei nicht fiebernden zur Verhütung des Erbrechens die Eingabe von Peremesin notwendig wurde. Die Resorption des Cibazols war bei Fiebernden

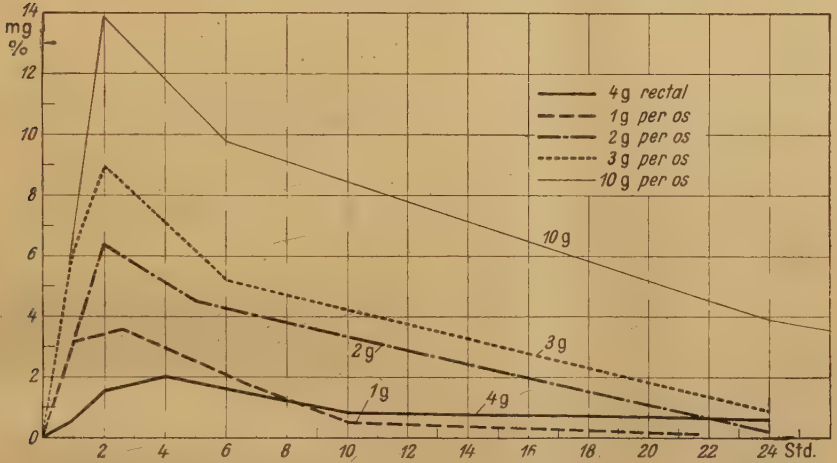


Abb. 1. Cibazolkonzentrationen im Blut nach rektaler und oraler Applikation.

wie bei Personen mit normaler Temperatur dieselbe. Die Temperatur sank auch bei unseren Versuchen in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Nicolai [7] nach Cibazol nicht.

Zusammenfassung.

Die Resorption des Cibazols vom Rektum aus erfolgt sehr langsam und ist gering gegenüber der nach oraler Anwendung, so daß sie therapeutisch nicht ausreichend ist.

Durch Fieber, hervorgerufen durch Pyrifer, wird die Resorption des Cibazols nicht verändert, das Fieber auch durch Cibazol nicht herabgesetzt.

Literatur.

[1] Blume, W. u. W. Vogel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, 617 (1943). — [2] Strauss, E. Francis C. Lowell, F. H. Laskey Taylor and Maxwell Finland: J. amer. med. Assoc. **1940**, 1360. — [3] Heni, F. u. A. Hahn: Zbl. inn. Med. **62**, 681 (1941). — [4] Rieben, G.: Schweiz. med. Wschr. **1943**, Nr 25, 797. — [5] Oesterheld, G.: Schweiz. med. Wschr. **1940**, 459. — [6] Druey, J. u. G. Oesterheld: Helvet. chim. Acta **25**, 753 (1942). — [7] Nicolai, Heinz: Münch. med. Wschr. **1941**, Nr 40, 1084.

Aus der Biologischen Abteilung des Allg. Instituts gegen die Geschwulstkrankheiten, Rudolf-Virchow-Krankenhaus, Berlin (Direktor: Prof. Dr. Cramer).

Der Einfluß von Hämatoporphyrin auf die Wirkung einiger Krampfgifte (Coramin, Cardiazol, Strychnin).

Von

W. Rodewald.

(Eingegangen am 19. Februar 1945.)

Bei unseren Untersuchungen mit Protoporphyrin haben wir häufig bei Fröschen und jungen Mäusen Krampferscheinungen beobachtet[1]. Nach hohen Dosen von Hämatoporphyrin ließen sich dagegen nur selten bei Mäusen, und zwar nur bei jungen Tieren, Anzeichen gesteigerter Erregbarkeit nachweisen. Echte Krämpfe kamen nach Hämatoporphyrin unter Hunderten von Versuchstieren nur zweimal vor. Da sich in unseren früheren Untersuchungen gezeigt hat, daß das Hämatoporphyrin häufig die gleichen, aber sehr viel schwächer ausgeprägten Reaktionen hervorruft wie das Protoporphyrin, sollte geprüft werden, ob durch Hämatoporphyrin eine gewisse Krampfbereitschaft erzeugt wird, die aber unter normalen Versuchsbedingungen nicht in Erscheinung tritt. Es wurde untersucht, ob sich durch Vorbehandeln mit Hämatoporphyrin eine gesteigerte Empfindlichkeit Krampfgiften gegenüber nachweisen läßt.

Zum Versuch kamen Mäuse verschiedenen Gewichtes, vorwiegend männliche Tiere und Frösche (Rana temperaria). Zu jeder Versuchsreihe wurden Kontrollen mit gleich schweren und unter gleichen Bedingungen gehaltenen Tieren angesetzt, die entweder nur das Krampfgift, oder statt der Porphyrinlösung die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung erhielten. In einigen Versuchsreihen wurde die Kochsalzlösung mit Essigsäure auf das p_H der Porphyrinlösung gebracht. Es zeigte sich aber, daß in den vorliegenden Fällen das p_H der Lösung keinen wesentlichen Einfluß auf den Ausfall der Versuche hatte. Hämatoporphyrin wurde in Form des Photodyn (Nordmark-Werke) gegeben, und zwar in allen Versuchen 20 γ = 0,01 ccm/g Körpergewicht. Bei dieser Dosierung ließen sich nur in einzelnen Fällen schwache Anzeichen einer gesteigerten Erregbarkeit beobachten. Als Krampfgifte wurden verwandt: 1. Coramin, 2. Cardiazol, 3. Strychninnitrat. Die nötigen Verdünnungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, und zwar so, daß je Gramm Tier immer 0,01 ccm injiziert wurde. Alle Injektionen wurden subkutan verabreicht. Die Versuche wurden im Winter und Frühjahr durchgeführt.

Ergebnisse.

1. Coramin. Nach subkutaner Gabe von 0,125 mg Coramin/g wurden bei Mäusen niemals Krämpfe beobachtet. Es traten lediglich bei 2 von 24 Tieren Anzeichen erhöhter Erregbarkeit auf. Wenn aber

10 Min. vor der Coramininjektion Hämatoporphyrin gegeben wurde, konnte die Empfindlichkeit der Tiere so gesteigert werden, daß nun von 16 Mäusen 11 mit starken Krämpfen, die zum Teil den Tod der Versuchstiere herbeiführten, ansprachen. Mit geringeren Coramindosen (0,1 mg/g) konnte nach Vorbehandlung mit Hämatoporphyrin kein Krampfeffekt mehr ausgelöst werden. Auch Veränderungen der Zeitspanne zwischen den beiden Injektionen auf 5, 20 oder 30 Min. brachten keinen Erfolg.

Mit 1,24 mg Coramin/g konnten bei 11 von 20 Fröschen starke Erregungserscheinungen und Krämpfe hervorgerufen werden, denen eine vollständige Lähmung folgen kann. In verschiedenen Zeitabständen, 10, 12, 25, 30, 45 und 50 Min. vor der Coramininjektion wurde Hämatoporphyrin gegeben. Eine Steigerung der Krampfwirkung trat erst auf, wenn der Abstand zwischen beiden Injektionen bei 45—50 Min. lag. Von 16 Tieren sprachen dann 12 mit wiederholten Krämpfen an, die in den meisten Fällen zum Exitus führten.

2. Cardiazol. Vorbehandlung mit Hämatoporphyrin hatte nur geringen Einfluß auf den Cardiazolkrampf bei Mäusen. Eine Dosis von 0,06 mg Cardiazol/g, die bei unbehandelten Tieren keine Krämpfe hervorzurufen vermochte, konnte auch durch Vorbehandlung mit Porphyrin nicht wirksam gemacht werden. Auf 0,07 mg Cardiazol/g traten bei 8 von 21 Mäusen Krämpfe auf. Wurde 10 Min. vor dem Cardiazol Porphyrin injiziert, so reagierten von 19 Versuchstieren 6. Nach 0,08 mg Cardiazol/g wurden bei 28 von 45 Mäusen schwere Krämpfe hervorgerufen. Durch Hämatoporphyrin konnte nur eine unwesentliche Steigerung der Wirkung erzielt werden: Es sprachen jetzt von 38 Tieren 29 mit Krämpfen an. Variationen in zeitlichem Abstand zwischen den beiden Injektionen auf 0, 5, 20 und 30 Min. brachten keine Veränderung der Versuchsergebnisse mit sich.

3. Strychninnitrat. Auf 1 γ Strychninnitrat/g Maus reagierte von 81 Tieren etwa die Hälfte (51%) mit Krämpfen. Nach Hämatoporphyrin, 10 Min. vor der Strychnininjektion gegeben, sank die Zahl der Mäuse, die mit Krämpfen oder erhöhten Erregbarkeitserscheinungen ansprachen, auf 36% ab. Bei einem zeitlichen Abstand von 30 Min. zwischen den beiden Injektionen reagierten von 28 Tieren noch 7. Mit Strychnindosen von 0,7 und 0,5 γ wurden keine Ergebnisse erzielt.

Es wurden einige orientierende Versuche mit Strychnin vorgenommen, um zu prüfen, wieweit sich die Veränderungen in der Krampfbereitschaft auf die photosensibilisierende Wirkung von Hämatoporphyrin zurückführen lassen.

Die Versuche wurden an Mäusen durchgeführt, die noch bei Tageslicht Hämatoporphyrin erhielten oder in Kontrollversuchen physiologische Kochsalzlösung und sofort anschließend ins Dunkle gesetzt wurden. Die Strychnin-

injektionen wurden bei schwachem Rotlicht durchgeführt (1 γ Strychninnitrat/g). Die Tiere blieben während der ganzen Versuchszeit im Dunklen und wurden nur alle 15—20 Min. bei schwachem Rotlicht kontrolliert. Es konnte daher nur festgestellt werden, wie viele Mäuse im Krampfanfall gestorben waren. Zu jedem Versuch liefen Tageslichtkontrollen bei sonst gleichen Versuchsbedingungen.

Durch den Dunkelaufenthalt konnten die Todeszahlen nach Strychnin wesentlich herabgesetzt werden. Bei Tageslicht starben im Krampfanfall von 41 Tieren 21 und bei Dunkelheit von 42 Mäusen nur 5. Zur gleichen Zeit liefen Versuche, bei denen die Tiere 10 Min. vor der Strychnininjektion Hämatoporphyrin erhielten. Von 21 Tieren kamen 6 zum Exitus und bei einem zeitlichen Abstand von 30 Min. zwischen den beiden Injektionen von 28 Mäusen 7. Die toxische Wirkung des Strychnins kann demnach unter Lichtabschluß durch Hämatoporphyrin gesteigert werden.

Zusammengefaßt ergibt sich, daß mit Hämatoporphyrin bei Mäusen und bei Fröschen eine Krampfbereitschaft, durch die unterschwellige Krampfgiftdosen wirksam gemacht werden könnten, unter den angegebenen Versuchsbedingungen nicht hervorgerufen werden kann. Es läßt sich aber durch Vorbehandeln der Versuchstiere mit Hämatoporphyrin die Ansprechbarkeit auf wirksame Krampfgiftdosen verändern besonders deutlich bei Coramin, wo die Krampfwirkung verstärkt wird. Beim Strychnin sank unter normalen Bedingungen die Zahl der Versuchstiere, bei denen Krämpfe beobachtet werden konnten, etwas ab. In Dunkelheit ist die Reaktion auf Strychnin wesentlich herabgesetzt. Hier läßt sich die erhöhte Krampfbereitschaft unter Hämatoporphyrin deutlich machen. Die Reaktionen auf Cardiazol werden durch das Porphyrin kaum verändert. Über den Angriffspunkt der Hämatoporphyrinwirkung im Zusammenhang mit den Krampfgiften kann noch nichts ausgesagt werden. Es ist möglich, daß die zentralen Lähmungen, die vor allem nach Coramin neben der erregenden Wirkung auftreten, und auch beim Strychnin von Bedeutung sind, durch das Porphyrin zum Teil beseitigt werden können. Beim Cardiazol mit seiner fast rein erregenden Wirkung werden daher keine Veränderungen nach Porphyrin erzielt.

Literatur.

[1] Hinsberg, K. u. W. Rodewald: Arch. exper. Path. (D.) **191**, 1 (1938).

Aus der Biologischen Abteilung des Allg. Instituts gegen die Geschwulstkrankheiten, Rudolf-Virchow-Krankenhaus, Berlin (Direktor: Prof. Dr. Cramer).

Über die Veränderungen im weißen Blutbild nach wiederholten Blutabnahmen bei der Laboratoriumsratte.

Von

W. Rodewald.

(Eingegangen am 19. Februar 1945.)

In einer Reihe von Untersuchungen über Blutbildveränderungen bei der weißen Laboratoriumsratte fanden wir unter dem Einfluß wiederholter Blutentnahmen bei den Kontrolltieren überraschende Veränderungen im weißen Blutbild, die uns aus der Literatur nicht bekannt waren. Diese Beobachtung scheint einer gesonderten Veröffentlichung wert, da derartige Umstellungen im Verlauf der Experimente leicht zu Fehlbeurteilungen in der Beeinflussung des weißen Blutbildes durch Pharmaka führen können.

Im allgemeinen wird bei fortlaufenden Untersuchungen bei Ratten das Blut aus dem Schwanz nach Kupieren eines Schwanzstückes gewonnen. Verschiedene Autoren, z. B. Klieneberg und Carl, Flaum, Woenkhaus[2], haben bereits darauf hingewiesen, daß bei wiederholten Untersuchungen als Folge des Traumas eine Entzündung mit polynucleärer Leukozytose eintritt. Diese Entzündungserscheinungen sollen sich ausschalten lassen, wenn nach Flaum die neue Schnittstelle mindestens 1 mm, nach Woenkhaus mindestens 1 cm oberhalb der alten liegt. Für das normale Blutbild der Ratte sind, wie aus einer Zusammenstellung von Flaum hervorgeht, überaus schwankende Werte für die Lymphozyten und Segmentkernigen angegeben worden. Nach seiner Aufstellung wurden 44—79% Lymphozyten und 17—50% Segmentkernige bei normalen Ratten in der Literatur angeführt. Diese Abweichungen sollen nicht durch das verschiedene Geschlecht oder Alter der Tiere zu erklären sein. Auch normale physiologische Schwankungen oder der Einfluß der Fütterung wirken sich nicht deutlich auf das weiße Blutbild aus.

Die Blutentnahme aus dem Schwanz geschah bei unseren Untersuchungen folgendermaßen: Der Schwanz wurde gesäubert und die Schwanzspitze durch einige Minuten langes Eintauchen in 40—50° heißes Wasser hyperämisch gemacht. Der Schwanz wurde abgetrocknet, leicht zur Spitze hin massiert und ein Stück abgeschnitten. Der erste Blutstropfen wurde verworfen und von den folgenden Ausstriche gemacht. Bei wiederholten Blutentnahmen wurde jedesmal die Prozedur wiederholt und mindestens 0,5 cm neu abgeschnitten. Entzündungen

oder Nekrosen wurden nur gelegentlich bei Ratten beobachtet, die längere Zeit im Versuch waren. Diese Tiere wurden möglichst ausgeschaltet, wenn auch bei ihnen keine deutlichen Blutbildveränderungen festgestellt werden konnten. — Im Verlauf der Untersuchungen wurden auch Blutausstriche aus der Schwanzvene, dem Ohr und dem Herzen gemacht. Die Schwanzvene wurde am Schwanzansatz punktiert oder angeschnitten. Das austropfende Blut wurde aufgefangen und zu Ausstrichen verwandt. Die Wundstelle schließt sich schnell wieder. Zur Entnahme des Blutes aus dem Ohr wird die Ohrmuschel gereinigt und wie bei den Versuchen am Schwanz mit Wasser von 40—50° erwärmt oder zwischen 2 Metallspateln, die erwärmt worden waren, hyperämisch gemacht. Anschließend wurde massiert und durch einen Schnitt ein Gefäß eröffnet. Zur Blutentnahme aus dem Herzen wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet und das Herz frei präpariert. Das Herz wurde angeschnitten und aus der Herzkammer das Blut entnommen.

Wir haben bei 92 Ratten verschiedenen Alters, vorwiegend männlichen Tieren, das normale Blutbild aus dem Schwanz bestimmt und in den einzelnen Gewichtsgruppen folgende Durchschnittswerte gefunden (Tabelle 1):

Tabelle 1.

Gewicht der Ratten g	Lymphozyten	Segmentkernige	Eosinophile	Basophile	Monozyten	Jugendliche	Stabkernige	Zahl der Tiere
65—90	66	27	3,7	—	1,4	1,2	0,7	17
100—169	77,1	19,7	2,7	—	0,5	—	—	24
170—300	72,8	21,3	2,3	0,1	1,8	1,1	0,6	51

Die Lymphozytenwerte schwanken zwischen 91 und 52%. Für die folgenden Untersuchungen wurden Ratten mit Lymphozytenzahlen unter 70% möglichst nicht genommen.

Nach wiederholten Blutabnahmen aus dem Schwanz innerhalb eines Tages tritt häufig eine wesentliche Senkung der prozentual vorhandenen Lymphozyten und eine korrelative Zunahme der Segmentkernigen ein. Die anderen Elemente des weißen Blutbildes zeigen keine deutlichen Schwankungen. Die Veränderungen sind besonders deutlich, wenn die Blutentnahmen im Abstand von 1—2 Stunden aufeinander folgen. In einzelnen Fällen konnte schon bei der zweiten Blutentnahme, 2 Stunden nach der ersten, eine deutliche Senkung der Lymphozytenwerte festgestellt werden. Bei stundenweiser Abnahme verstärkt sich die Verschiebung des Blutbildes immer mehr. Wir haben bei der vierten Abnahme in extremen Fällen einen Lymphozytenabfall von 74 auf 22% und einen Anstieg der Segmentkernigen von 19 auf 67% beobachten können. Nach dreimaliger Reizung im Abstand von je 1 Stunde konnten wir bei 42 Ratten einen durchschnittlichen Abfall der Lymphozyten um 22% und einen entsprechenden Anstieg der Segmentkernigen um 22,6% feststellen. Das Ausmaß

der Leukozytenverschiebung ist zum Teil vom Gewicht und damit von dem Alter der Versuchstiere abhängig. Nach dreimaliger Blutentnahme im Abstand von je 1 Stunde war die durchschnittliche Abweichung der Lymphozyten bei 28 Tieren unter 75 g — 11% und die der Segmentkernigen +10%. Bei 20 Ratten zwischen 175 und 250 g betrugen die entsprechenden Werte — 22,5% und + 22,6%. Zwischen der Reaktion von männlichen und weiblichen Tieren wurden keine Unterschiede gefunden. Bei anschließender täglicher Kontrolle des Blutbildes zeigten einige Ratten nach 4 Tagen bereits wieder normale Werte; nach 8 Tagen waren die Blutbilder bei allen Tieren wieder normal. Bei einmaliger Blutentnahme täglich zeigten sich über 14 Tage keine Veränderungen, auch wenn der Ausstrich aus der alten Wundstelle gemacht wurde. Bei 2 Abstrichen täglich im Abstand von 4 Stunden 5 Tage lang konnten wir nur bei 2 von 8 Ratten eine gewisse Verminderung von Lymphozyten beobachten. Die Umstellungen im Blutbild hängen nicht mit einer zahlenmäßigen Veränderung der Gesamtleukozyten zusammen. Die bei diesen Untersuchungen gefundenen Leukozytenwerte schwanken zwischen 14000 und 39000, ohne daß sich besondere Beziehungen zu den Versuchsbedingungen oder den Veränderungen im Schwanzblut nachweisen ließen.

Die Umstellungen im differenzierten weißen Blutbild treten also dann ein, wenn die Blutentnahmen im kürzeren Zeitabstand aufeinander folgen. Es lag daher zunächst die Vermutung nahe, daß es sich dabei um Veränderungen im Rahmen der von SELYE[3] beschriebenen Alarmreaktion handelt. In diesem Fall muß sich die Verschiebung im weißen Blutbild im gesamten strömenden Blut nachweisen lassen. Es wurden daher außer aus der Schwanzspitze auch aus der Schwanzvene, dem Ohr und dem Herzblut Blutbilder hergestellt. Bei normalen unbehandelten Ratten stimmen die prozentualen Werte der einzelnen Leukozytenformen in dem Blut aus Ohr, Schwanzvene, Schwanzspitze und Herz gut überein (25 Tiere). Allerdings wurden in der Schwanzspitze häufiger Lymphozytenzahlen gefunden, die bis 7% niedriger lagen als in den anderen Blutproben. Bei 20 Ratten, bei denen die beschriebenen Blutbildveränderungen durch wiederholte Blutentnahme hervorgerufen waren, fanden sich zur gleichen Zeit in dem aus Ohr, Herz und Schwanzvene entnommenem Blut keine Veränderungen. Bei der Umstellung des Blutbildes muß es sich demnach um eine Reaktion handeln, die nur auf einen bestimmten Bezirk beschränkt ist. Schon orientierende Versuche zeigten, daß bei den vorbehandelten Tieren die Lymphozytenwerte 2—3 cm oberhalb der letzten Schnittstelle höher, wenn auch noch nicht normal waren (35 Tiere). Wurde der Schwanz vor den jeweiligen Blutentnahmen nur bis zu einer

vorher markierten Stelle mit Wasser und Massage gereizt, so zeigten sich oberhalb der Reizgrenze, die 5 cm über der letzten Schnittstelle lag, deutlich höhere Lymphozytenzahlen als in dem gereizten Bezirk. Es war aber auch hier ein Abfall nachzuweisen (30 Tiere).

Es hat demnach den Anschein als ob der Reiz, der bei den wiederholten Blutentnahmen gesetzt wird, für die Blutbildveränderungen verantwortlich gemacht werden muß. Bei der Vorbereitung zur Blutentnahme kommen 3 Reizfaktoren in Frage: die Erwärmung, die Druckwirkung durch die Massage und der Wundreiz durch den Schnitt. Eine getrennte Untersuchung dieser 3 Faktoren ergab, daß für die Lymphozytenveränderungen die Erwärmung und die Massage verantwortlich gemacht werden müssen. Der Wundreiz selbst hat keinen Einfluß auf das Blutbild. Um festzustellen, ob durch Wärme und Massage bei der Ratte immer derartige lokale Veränderungen im Blutbild erzeugt werden können, wurde bei 18 Ratten die Ohrmuschel ebenfalls wiederholt mit Wärme und Massage behandelt und dann ein Ausstrich gemacht. Es konnten keine Veränderungen in den Werten für Lymphozyten und Segmentkernige nachgewiesen werden. Die Veränderungen im weißen Blutbild nach mehrfacher Reizung durch Erwärmen und Massage beschränken sich demnach anscheinend auf das Schwanzblut. Wahrscheinlich bieten sich im Rattenschwanz Durchblutungsbedingungen dar, die ein besonderes Ausmaß von lokalen Veränderungen ermöglichen.

Zusammenfassung.

Nach mehrfacher Blutentnahme aus dem Rattenschwanz im Abstand von 1—2 Stunden tritt eine beträchtliche Abnahme der Lymphozyten mit korrelativer Zunahme der Segmentkernigen ein. Die Blutbildveränderungen treten lokal auf und werden durch die Wärme und Massage, die zum Austreiben des Blutes führen sollen, hervorgerufen. Durch die gleichen Reize lassen sich an der Ohrmuschel keine derartigen Veränderungen im Blutbild hervorrufen.

Literatur.

[1] Klieneberg u. Carl: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. Leipzig 1927. — [2] Flaum: In R. Jaffé, Anatomie und Pathologie der Spontanerkrankungen der kleinen Laboratoriumstiere, S. 92—203. Berlin 1931. — [3] Selye, H.: Endokrinologie **21**, 169 (1937). — Klin. Wschr. **1938**, 666. — Endokrinologie **13**, 81 (1936.)

Aus der Abteilung für experimentelle Pathologie und Therapie des William-G.-Kerckhoff-Herzforschungsinstituts Bad Nauheim.

Zur pathologischen Physiologie der Überhitzung durch Strahlung.

I. Mitteilung.
Kreislauf und Atmung.

Von

Dr. med. Paul Schölmerich.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juli 1947.)

Im Gegensatz zur Erforschung der durch Verbrennung mehr oder weniger großer Hautareale an Mensch und Tier hervorgerufenen pathologisch-anatomischen Erscheinungen, denen zahlreiche Einzelarbeiten und eine größere Monographie[1] gewidmet sind, beschränkt sich die Klärung der bei thermischen Traumen ablaufenden pathophysiologischen Vorgänge auf wenige experimentelle Beiträge mit vorwiegend konkreter therapeutischer Fragestellung[2,3,4]. Die in der gesamten Schock- und Kollapsliteratur verstreuten Angaben über die Ursache der akut bedrohlichen Zustände nach schweren Verbrennungen bewegen sich im übrigen im Rahmen der Theorie von der Wirkung toxischer, aus den verbrannten Körperbezirken resorbierter körpereigener Stoffe[5,6], wobei dem Histamin eine besondere Rolle zugesprochen wird. In der Tat ließen sich auch in vielen Versuchen schon nach einfachen Bestrahlungen der Haut oder nach Beeinflussung mit Diathermie Veränderungen des Histamingehaltes im Blut oder in der bestrahlten Haut nachweisen[7,8,9]. Bisher fehlten aber in der Literatur experimentelle Untersuchungen der ersten akuten Reaktion auf Verbrennung und Überhitzung, insbesondere liegen keine Angaben über die ersten Reaktionen bei Schädigung des Organismus durch strahlende Hitze vor, obwohl mit Sicherheit ein großer Teil der Opfer großer Brandkatastrophen, z. B. im Verlauf des Krieges nicht durch unmittelbaren Kontakt mit brennender Materie oder durch eigentliche Verbrennung zugrunde ging, sondern infolge der Einwirkung intensiver Hitzestrahlung mit der ihr eigentümlichen Tiefenwirkung. Diese Tatsache ist um so bemerkenswerter, als die im Zuge der kriegerischen Ereignisse sich tausendfach wiederholenden Feuerstürme mit ihrer Bedeutung für die menschliche Pathologie das Bedürfnis nach einer solchen Klärung eher hätten wachrufen können.

Methodik.

Es wurden im Verlauf längerer Untersuchungen, die später durch andere Fragestellungen erweitert wurden, an insgesamt 17 Katzen mit einem Durchschnittsgewicht von 2,5 kg und 8 Schweinen von 8—15 kg Gewicht Atmung, arterieller Blutdruck, Sauerstoffsättigung, Rektal- und Hauttemperatur unter dem Einfluß einer Anstrahlung der Bauchhaut des Versuchstieres mit einer Bestrahlungslampe von 1000 Watt aus etwa 15—20 cm Entfernung registriert. Die Atmung wurde über eine Gasuhr mit gekuppeltem photoelektrischem Atemschreiber im Stufenverfahren registriert, wobei jeder treppenförmige Absatz einen Atemzug und der Gesamtausschlag von der Nullinie bis zum Rückschlag ein Volumen von 0,5 Liter angibt. In späteren Versuchen benutzten wir an Stelle dieser Atemregistrierung eine Anordnung, bei der die mit der Thoraxexkursion wechselnden Abstände zwischen zwei seitlich angebrachten, subkutan versenkten V_2A-Elektrodenplatten in ihrer Wirkung auf eine Durchflutung des Thorax mit technischem Wechselstrom benutzt wurde. Eine Brückenschaltung gestattete, die wechselnden Widerstände zwischen den Elektroden als Stromschwankungen einem Galvanometer zuzuführen.

Die Registrierung des arteriellen Druckes wurde mit Hilfe des REINschen photoelektrischen Blutdruckschreibers, die der Sauerstoffsättigung mit der KRAMER-Uhr vorgenommen, wobei in einigen Versuchen VAN SLYKE-Analysen eine quantitative Präzisierung erlaubten. Rektal- und Hauttemperatur konnten mit Thermoelementen fortlaufend aufgezeichnet werden, wobei für beide Lötstellen die gemeinsame Vergleichstemperatur in einer thermisch abgeschirmten Isolierflasche konstant gehalten wurde.

Die Untersuchungen wurden aus zwei Gründen an so unterschiedlichen Versuchstieren wie Katze und Schwein vorgenommen. Bei oberflächlicher Durchsicht der Literatur war uns hinsichtlich der Wirkung einmaliger Histamingaben ein wesentlicher Unterschied zwischen der Reaktion bei Fleisch- und Pflanzenfressern aufgefallen. Bei Fleischfressern greift Histamin primär am Kreislaufsystem an, in Form der Lebervenensperre beim Hund[10], bei Pflanzenfressern jedoch in erster Linie am Atemsystem durch eine vor allem beim Meerschweinchen auftretende Bronchokonstriktion[11]. Wir glaubten also, es müßten sich, vorausgesetzt, Histamin sei die wesentliche Ursache der Atmungs- und Kreislaufveränderung bei der Verbrennung, erhebliche Unterschiede im Verhalten beider Tiere finden. Zudem lag uns sehr an der praktischen, also therapeutischen Konsequenz unserer Untersuchungen für die menschliche Pathologie. Von hieraus gesehen kommt kein Versuchstier bezüglich der Struktur seiner Körperoberfläche den anatomischen Verhältnissen beim Menschen so nahe wie das Schwein. Es liegt auf der Hand, daß bei Katzen jede Wärmeanstrahlung sich vor morphologischen Veränderungen der Haut zunächst in einer Temperatursteigerung der innerhalb des Haarpelzes stagnierenden Luftschicht äußern muß. Diese Tatsache mildert die akute Einwirkung heftiger Anstrahlung. Beim Schwein dagegen wirkt sich strahlende Hitze ohne jedes Absorptionshindernis unmittelbar in den betroffenen Hautpartien aus, so daß alle Wirkungen schneller, wenn nicht sogar in den Anfangsstadien anders ablaufen müssen.

1. Versuche an Katzen.

Abb. 1 zeigt den typischen Anfangseffekt einer Anstrahlung mit einer 500-Watt-Lampe (Strahlungssonne aus etwa 20 cm Entfernung). Es wurden Thorax und Abdomen am aufgespannten Tier bestrahlt.

Mit einer Latenz von etwa 10 Sek. beginnt der arterielle Druck von 110 mm Hg auf 160—170 mm Hg anzusteigen, ein Wert, der nach 1 Min. erreicht ist. Im Verlauf der 10 Min. andauernden Überhitzung fällt der Blutdruck wieder auf 125 mm Hg. Die Steigerung ist in diesem Fall auffällig und ungewöhnlich hoch, wenn sie auch in allen Katzenversuchen deutlich ist. Wahrscheinlich hängt diese Tatsache mit einer relativ starken Narkosewirkung beim Beginn des Versuches zusammen, die einen mangelhaften Gefäßtonus zur Folge hat. Durch die Schmerzreize der ersten Hitzewirkung kommt ein Abflauen der narkotischen Wirkung zustande.

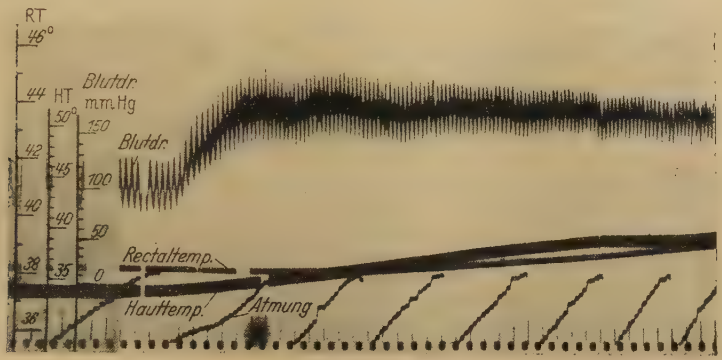


Abb. 1. Wirkung einer ersten Bestrahlung mit einer 500-Watt-Lampe aus 20 cm Entfernung. Bei Unterbrechung aller Strahlen Beginn der Überhitzung. Zeitmarkierung 10 Sek.

Die Atmung reagiert mit ungefähr gleicher Latenz zunächst mit einer sehr kurz dauernden Verkleinerung und Verlangsamung der Atemtiefe und -frequenz, welche mitten im Anstieg der Stufenkurve dann plötzlich wesentlich beschleunigt wird. Dabei bleibt die Atemtiefe praktisch unverändert, so daß sich eine zunehmend vergrößerte Lungenventilation ergibt. Dieser Effekt hält bis kurz nach dem Ende der Überhitzung an. Ebenso plötzlich schlägt dann die Beschleunigung in eine Verlangsamung mit zwar teils vergrößertem Hub um; insgesamt ergibt sich jedoch ein wesentlich geringerer Ventilationseffekt, wie aus dem vergrößerten Abstand zwischen den Rückschlägen der Atemschreibung zu ersehen ist (Abb. 2).

Schließlich sistiert die Atmung völlig bei einem arteriellen Druck von 120 mm Hg, der eine Durchblutungsstörung des Atemzentrums ausschließt. Es werden starke Kreislaufwirkungen mit tiefen Senkungen und steilen Anstiegen des arteriellen Druckes sichtbar: Reizsymptome des Vasomotorenzentrums, das von wenig sauerstoffgesättigtem Blut durchströmt wird. Zugleich befindet sich das Tier in starker motorischer Unruhe, durch die wegen der Beteiligung der Atemmuskulatur eine

geringe Ventilation zustande kommt. Erfolgt jetzt keine künstliche Atmung, kommt es nach den Erfahrungen anderer Versuche über eine tiefe Bradykardie und vorübergehenden Blutdruckanstieg zu rapidem

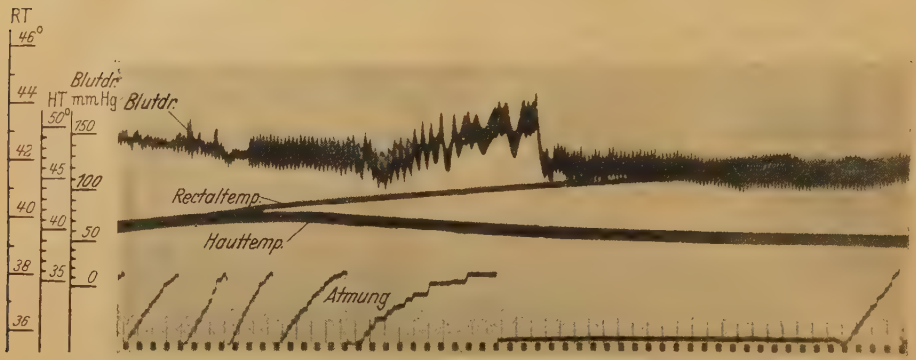


Abb. 2. (15 Min. nach Beginn der Bestrahlung auf Abb. 1.) Erster Atemstillstand 5 Min. nach dem Ende der Bestrahlung. Nach dem Ende der natürlichen Atmung künstliche Ventilation; gegen Ende des Bildes wieder kurze Zeit Spontanatmung. (Die künstliche Atmung wird nicht registriert.)

Abfall mit deletärem Ausgang. Unter künstlicher Atmung bei entsprechend der Atemtiefe des normalen Tieres eingestelltem Hub mit etwas vergrößerter Frequenz hält sich jedoch der arterielle Druck weiter

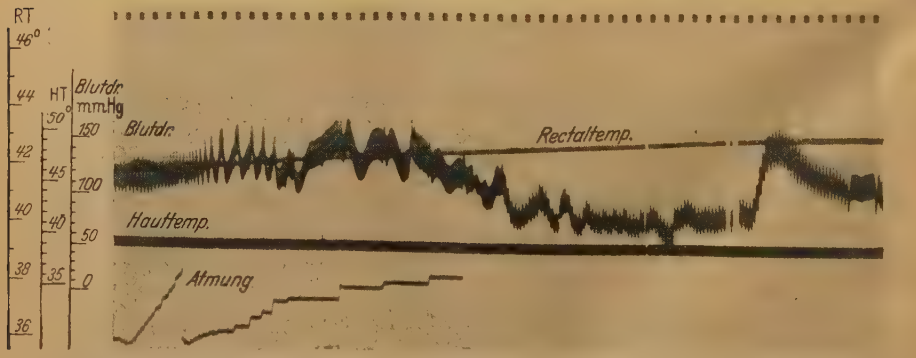


Abb. 3. Unmittelbare Fortsetzung von Abb. 2. (20 Min. nach Beginn, 10 Min. nach Ende der Bestrahlung.) Zweiter Atemstillstand nach kurz dauernder frequenter Spontanatmung. Nach dem Ende der natürlichen Atmung künstliche Ventilation. Bei Unterbrechung gegen Ende 12,5 mg Sympatol intravenös.

auf der Höhe von 100 mm Hg. Für kurze Zeit kommt eine sehr frequente natürliche Atmung wieder in Gang. Gleichzeitig sinkt mit erneutem Atemstillstand der arterielle Druck sehr stark ab und wird bei künstlicher Beatmung auf einer Höhe von 60 mm Hg gehalten (Abb. 3).

Der Verlauf der Rektal- und Hauttemperatur ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1. *Die Bestrahlung beginnt 11.45 Uhr und endet 11.54 Uhr.* Der arterielle Druck steigt während der Bestrahlung von 100 auf 150 mm Hg, fällt dann langsam wieder auf sein Ausgangsniveau.

Zeit	11.35 Uhr	11.45 Uhr	11.48 Uhr	11.51 Uhr	11.54 Uhr	11.57 Uhr	12.06 Uhr	12.55 Uhr
Rektaltemperatur . .	35	35	35,7	36	36,5	37,5	39,5	37,5
Hauttemperatur . .	31	31	40	50	62	44	34,5	33

Erst nach einer Bestrahlung von 3 Min. erhebt sich die Rektaltemperatur merklich über ihr Ausgangsniveau von 35° C, steigt dann im Verlauf der Überhitzung auf 36,5° C, um im Verlauf der nächsten Viertelstunde ein Maximum von 39,5° C zu erreichen. Von diesem Punkt an sinkt die Temperatur in 1 Stunde auf 37° C ab.

Die Hauttemperatur steigt, da die Thermonadel im Bestrahlungsfeld liegt, praktisch sofort an, fällt aber mit dem Ende der Anstrahlung ebenso schnell wieder ab, wobei der Ausgangswert nicht ganz wieder erreicht wird.

Im Verlauf einer zweiten Bestrahlung am gleichen Tier bei ungefähr gleichen Ausgangswerten ergibt sich ein anderer Verlauf der Rektaltemperatur. Sie bleibt über die ganze Dauer der Bestrahlung praktisch unverändert, um erst nach der Beendigung der Überhitzung geringfügig anzusteigen. Diese Tatsache hängt wohl mit den zu diesem Zeitpunkt schon wesentlich gestörten Kreislaufverhältnissen zusammen. Es läßt sich vorstellen, daß z. B. ein Zustand der Zentralisation des Kreislaufs[12] zu einer derartig herabgesetzten Durchblutung in der Peripherie führt, daß eine Wärmekonvektion von Orten höheren Stoffwechsels und damit höherer Temperatur zur rektalen Meßstelle kaum noch erfolgen kann (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Zweite Bestrahlung am Tier der Abb. 1 in einem Abstand von fast 2 Stunden.* Bestrahlung von 13.28—13.37 Uhr.

Zeit	13.18 Uhr	13.28 Uhr	13.31 Uhr	13.34 Uhr	13.37 Uhr	13.40 Uhr	13.48 Uhr
Rektaltemperatur. .	35	35	34,9	34,9	35	35,2	34,9
Hauttemperatur . .	32,1	32,1	45,1	49,2	62,0	48,5	40,3

Diese Versuche wurden unter natürlicher Atmung vorgenommen, wobei wir in einigen Fällen bei frühzeitigem Versagen der Atmung künstlich weiter beatmeten. In 5 Fällen jedoch wurden die Tiere von vornherein künstlich beatmet. Bei einer Ausgangstemperatur von 36° C rektal stieg die Temperatur ähnlich wie in Tabelle 1 auf 41° C einige Zeit nach Beendigung der Bestrahlung, konnte dann aber bei einer zweiten Überhitzung auf eine Höchsttemperatur von 42,5° C gebracht werden. Die Änderungen in der Hauttemperatur liegen in derselben

Größenordnung wie in Tabelle 1. Der Unterschied besteht also darin, daß wesentlich höhere Rektaltemperaturen erzielt werden, ehe ein deletärer Kollaps eintritt. In einem Fall wurde sogar eine Rektaltemperatur von 44° C, zugleich mit Quecksilberthermometer kontrolliert, gemessen.

Die Endphase eines solchen Überhitzungsversuches zeigt Abb. 4. Bei schon erniedrigtem arteriellem Druck schlägt die Atmung plötzlich vom frequenten Typ um in langsame Periodik, um nach 10—15 Atemzügen irreversibel zu sistieren. Herzaktionen sind noch eine Zeitlang

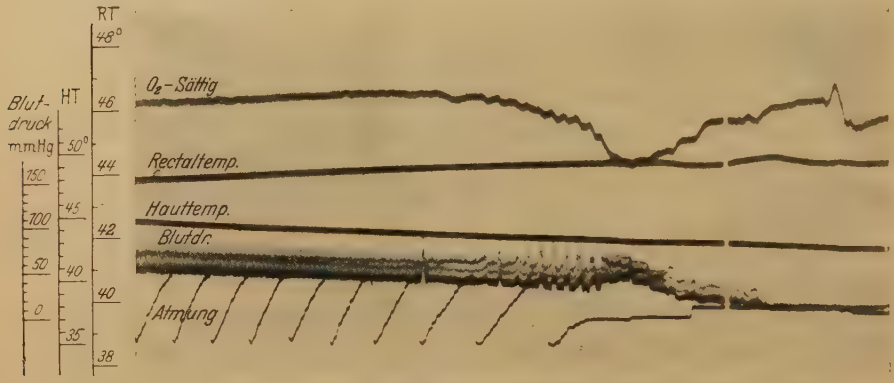


Abb. 4. Endphase eines Überstrahlungsversuches. Zeitmarkierung 10 Sek.

darüber hinaus registrierbar: In tiefer Bradykardie wird das Schlagvolumen immer kleiner, um schließlich in nur noch elektrokardiographisch nachweisbaren Aktionen ganz zu verschwinden.

2. Versuche an Schweinen.

Die Versuche an Schweinen brachten gegen die anfangs geäußerten Erwartungen kein grundsätzlich anderes Ergebnis. Aus der Abb. 5 ist zu ersehen, daß mit erheblichem Abfall des arteriellen Druckes unter gleichzeitiger stärkster Hyperpnoe, die die Form eines sehr frequenten Hechelns annimmt, plötzlich die Atemzüge langsamer werden. Wenige, in unregelmäßigen Abständen folgende tiefe Inspirationen leiten zu völligem Atemstillstand über. Jedoch ist bemerkenswert, daß in dieser Endphase einer Bestrahlungswirkung in keinem Fall eine deletäre Atemstörung bei arteriellen Werten über 100 mm Hg eintrat.

Es hat den Anschein, als ob beim Schwein Atmung und Kreislauf fast gleichzeitig zum Erliegen kommen, wobei gegenüber den Versuchen an Katzen Faktoren auftreten müssen, die den Kreislauf zusätzlich belasten. Merkwürdigerweise kommt es beim Schwein auch nicht in so starkem Maß zu dem als erste Reaktion bei Katzen beschriebenen Anstieg des arteriellen Druckes. Gleich zu Beginn der Bestrahlung sinkt

der Blutdruck sogar ab, um nach etwa 10 Min. wieder ein wenig über das Ausgangsniveau anzusteigen oder aber sich bei maximaler Hyperpnoe lange Zeit auf gleicher Höhe zu halten.

Abb. 5a u. b. Dritte Bestrahlung eines Schweines mit deletärem Ausgang. Beginn der Bestrahlung mit Anstieg der Hauttemperatur, Ende mit ihrer Unterbrechung kurz nach dem Maximum. Zeitmarkierung 10 Sek.

Ein tödlicher Effekt thermischer Schädigung trat im allgemeinen erst nach mehrfacher Bestrahlung von je 20—30 Min. Dauer ein, wobei zwei Strahlensonnen von je 500 Watt in 20 cm Abstand benutzt wurden. Bei der zweiten Überhitzung, die begonnen wurde, wenn die Wirkung der ersten auf Atmung und Kreislauf abgeflaut war, kam es zu einer

langsam zunehmenden Senkung des arteriellen Druckes, bei der dritten aber erst zum völligen Kollaps. Entsprechend stark waren auch hierbei die Atemwirkungen, die vor den finalen Atemstörungen sich in einem Fall in einer Frequenz äußerten, bei der Atmung und Puls in ihrem Rhythmus identisch waren. Dabei ist zu bemerken, daß der Nutzeffekt des Hechelns keineswegs nur in erhöhter Wärmeabgabe besteht, sondern daß tatsächlich eine höhere Sauerstoffsättigung zustande kommt, und damit auch eine vermehrte CO_2-Abgabe aus dem Blut zu erwarten ist. Keinesfalls liegt eine Art Rückatmung der in den Atemwegen nur hin und her bewegten Luftmengen vor, die auf diese Weise zu einer Erhöhung des CO_2-Gehaltes im Blut führen könnte[13]. Auch im Temperaturverlauf ergaben sich praktisch dieselben Verhältnisse. Künstliche Atmung scheint von geringerem Einfluß zu sein, da auch bei natürlicher Atmung Temperaturen von 44° C rektal gemessen wurden. Bei Hauttemperaturmessungen an der Peripherie, also fern vom Bestrahlungsbezirk, zeigt der Verlauf der Temperatur ein komplizierteres Bild. Es kommt zunächst mit steigender Körpertemperatur auch dort zu einer Zunahme der Hauttemperatur, die allerdings nicht parallel zur Rektaltemperatur ansteigt, sondern hinter deren Anstieg zurückbleibt. Mit eintretendem Kollaps wird diese Differenz zunehmend größer, wobei bei niedrigstem Blutdruck die Hauttemperatur fällt, während die Rektaltemperatur noch weiter ansteigt. Diese Beziehung zwischen Haut- und Rektaltemperatur weist auf die unterschiedliche Blutverteilung im Kollaps hin, bei dem es zunächst keineswegs zu einer völligen Lähmung des gesamten Gefäßtonus kommt, sondern, wenigstens bei den nicht sofort deletären Formen, zu einem Sparmechanismus im Sinne bevorzugter Durchblutung zentralerer Bezirke. Der Rest des Blutes bleibt in dem geschädigten Hautareal liegen, wobei anzunehmen ist, daß auf dem Reflexweg darunterliegende, innere Gefäßbezirke an der Erweiterung beteiligt werden.

Als Ersatz für die bei starken Differenzen in der Höhe des arteriellen Druckes nicht auswertbare KRAMER-Uhr haben wir in 3 Versuchen Bestimmungen des prozentualen Sauerstoffgehaltes mit der VAN SLYKE-Apparatur vorgenommen. Es ergab sich in allen 3 Fällen eine enorme Steigerung auf maximale Sättigungswerte nach Bestrahlung. Diese Werte stehen in Übereinstimmung mit der Tachypnoe und zeigen, daß keine unökonomische Ventilation in Form einfacher Bewegung toter Luftvolumina erfolgt.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei Beginn der Bestrahlung reagiert vor jeder rektalen Temperaturerhöhung, also vor jeder temperaturbedingten, allgemeinen Stoffwechselsteigerung das Atemzentrum mit einer erheblichen Steigerung der Atem-

frequenz. Zugleich zeigt sich eine Steigerung des Sympathikustonus mit Erhöhung der Herzfrequenz und einem Anstieg des arteriellen Drucks, der ohne Erhöhung des venösen Zustroms nicht denkbar ist. Auf diese Weise kommt eine beschleunigte Rückkehr des Blutes zum Herzen zustande. Schon aus rein zeitlichen Gründen ist es unwahrscheinlich, daß hierfür körpereigene Wirkstoffe verantwortlich sind, da neben der Bildung bzw. Freisetzung dieser Stoffe auch der Transport zu den sensiblen Fühlorganen und die motorische Umsetzung kaum in 10 Sek. abgelaufen sein kann. Es liegt nahe, anzunehmen, daß sensible Faktoren unmittelbar oder auf dem Wege der Irradiation[14] zu einer Erhöhung des Vasomotorentonus führen.

Es besteht also eine Steigerung der Atemfrequenz, die nicht durch den wegen der Temperaturerhöhung erhöhten Stoffwechsel allein erklärt werden kann. Im Verlauf der Bestrahlung nimmt die Frequenz ständig zu (Tabelle 3).

Tabelle 3. *Beeinflussung von Atemfrequenz und -volumen infolge einer von 11.44—11.53 Uhr anhaltenden Überstrahlung.*

Zeit	11.40 Uhr	11.45 Uhr	11.48 Uhr	11.51 Uhr	11.54 Uhr	11.57 Uhr	12.00 Uhr	12.06 Uhr
Frequenz je Minute . . .	11	12	15	17	18	21	22	
Volumen je Minute in ccm	250	400	500	620	570	510	650	600

Die Steigerung der Frequenz geht über 100%, wobei die in der Gasuhr gemessene Ventilationsgröße sich um fast 200% vermehrt. Im Verlauf der ersten Bestrahlung steigert sich die Frequenz noch 15 Min. nach Ende der Überhitzung, dagegen nimmt das tatsächlich geatmete Volumen schon früher ab. Die Atmung braucht dann über eine Stunde, um weder auf normale Werte abzufallen. Bei der zweiten Überhitzung wird die maximale Frequenz schneller erreicht, dagegen fällt sie diesmal schon 5 Min. nach dem Ende der Bestrahlung ab und führt in der 6. Min. zu Atemstillstand.

Die Steigerung geht über das physiologische Maß weit hinaus und ist trotz der steigenden Körpertemperatur deshalb nicht nur stoffwechselbedingt, weil die im erhöhten Stoffwechsel gebildete Kohlensäure die Atmung auf einer Frequenz halten müßte, bei der der CO_2-Wert ungefähr konstant bleibt. Dabei könnte sich aber auch die Sauerstoffsättigung nicht auf einen so maximalen Wert einstellen, wie er sich mit der VAN SLYKE-Bestimmung messen ließ. Es besteht also ein Sauerstoffüberangebot durch zu frequente Atmung mit entsprechendem CO_2-Defizit. Bei einem CO_2-Defizit müßte es aber eigentlich über das Atemzentrum zur Apnoe kommen. Es zeigt sich jedoch eine Hyperpnoe. Wie kommt diese Atembeschleunigung zustande? Um hier zu einer Entscheidung

zu kommen, läßt es sich nicht umgehen, die bisher bekannten Einflußfaktoren auf die Atmung abzuwägen hinsichtlich ihrer Bedeutung in unseren Versuchen.

1. Steigerung der Frequenz durch erhöhte Empfindlichkeit für CO_2.

In den von Lindhard[15] durchgeführten Reizschwellenbestimmungen für CO_2 hat es sich gezeigt, daß die Schwelle des Atemzentrums für CO_2 erniedrigt sein kann (bei Muskelarbeit, Sauerstoffmangel und Säuerung). Eine solche Erniedrigung der Schwelle ist auch als Folge sensibler Reizung denkbar, da die mit der Muskelarbeit sofort einsetzende Frequenzsteigerung wohl nur auf eine sensible Miterregung bezogen werden kann. Jedoch ist fraglich, ob die Schwellensenkung das Abrauchen der CO_2 überspielen kann, so daß trotz zunehmender Entfernung des CO_2 aus dem Blut die Atemfrequenz steigt. Endgültiges läßt sich über diesen Punkt erst sagen, wenn eine Messung der CO_2-Spannung vorgenommen ist.

2. Pressorezeptorische Atemreflexe.

Kramer und Gauer[16] zeigten, in Umdeutung auch von älteren Versuchen von Geppert und Zuntz[17], daß ein Sinken des arteriellen Druckes zu einer Beschleunigung der Atmung, Anstieg zu einer Verlangsamung der Frequenz führt. Ihre Bestätigung fanden diese Versuche in Aktionsstrommessungen von v. Euler, Liljestrand und Zotterman[18]. Nervenimpulse aus dem Karotissinus hemmen offenbar das Atemzentrum. Ein Zusammenhang unserer Beobachtungen mit diesen Einflüssen ist ausgeschlossen, da es bei unseren Versuchstieren bei *Anstieg* des arteriellen Druckes zugleich zu *Beschleunigung* der Atmung kommt.

3. Chemosensible Reflexe.

Seit die Hyperventilation im Sauerstoffmangel bekannt wurde, ist die Aufmerksamkeit in besonderem Maße auf die sensiblen Empfänger im Aortenbogen und im Karotissinus gelenkt worden. Diese branchiogenen Reflexzonen (Palme), deren phylogenetische Herkunft vor einiger Zeit Benzinger[19] in einer schönen Zusammenfassung gedeutet hat, sind für Sauerstoffmangel, Kohlensäureüberschuß und möglicherweise auch für andere chemische Faktoren reizempfänglich, als deren Vertreter das bisher weder chemisch noch auch in seiner physiologischen Existenz sicher nachgewiesene Hyperpnein angeführt sei. Die van Slyke-Analysen beweisen nun, daß von Sauerstoffmangel unter der beschriebenen Hyperpnoe keine Rede sein kann. Dementsprechend kommt es auch nicht zu einem Überschuß von CO_2. Die Frage des Hyperpneins schließlich hat Kramer[20] zunächst dahin entschieden, daß kein Experiment bisher mit Notwendigkeit zur Anerkennung eines solchen Stoffes zwingt. Alle bisher mitgeteilten Versuche, so besonders die klassischen von Zuntz und Geppert, lassen sich mit pressorezeptorischer Beeinflussung der Atmung hinreichend erklären. Auch in der von Koch[21] veröffentlichten Beobachtung läßt sich aus der Schreibung des arteriellen Blutdrucks ein Absinken ersehen. Vorstellbar wäre allerdings die Entstehung eines solchen Stoffes bei einer Temperatur von 60^0, subkutan

gemessen, im Verlauf des ausgedehnten Zellzerfalls im bestrahlten Bezirk durchaus. Wenn aber ein solcher Stoff tatsächlich besteht, so ist er sicherlich nicht identisch mit den kreislaufaktiven, körpereigenen Produkten Histamin und Adenylsäure. Abb. 6 gibt die Wirkung einer einmaligen Injektion wirksamer Mengen dieser beiden Substanzen wieder.

Im Gegensatz zu der sonst beobachteten Beschleunigung der Atmung bei Blutdruckabfall kommt es hier, kurz nachdem der arterielle Druck

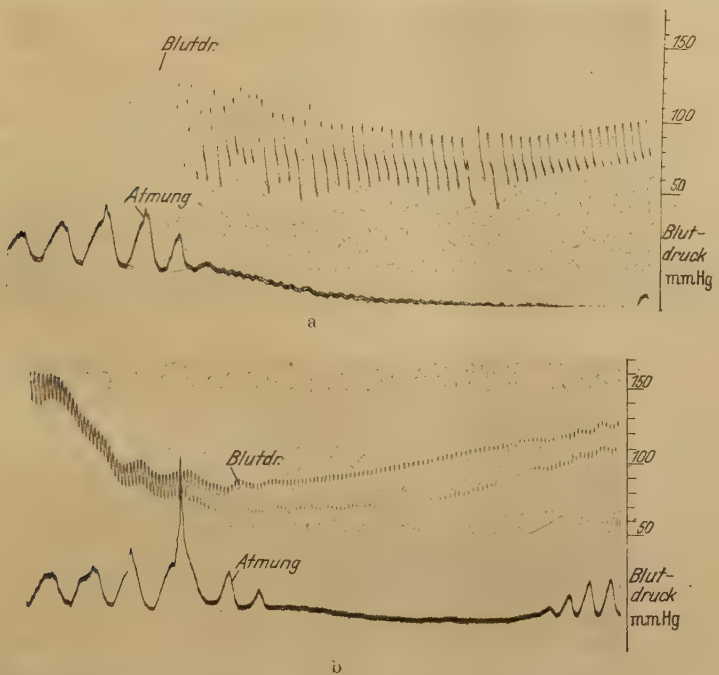


Abb. 6 a u. b. Wirkung von Histamin und Adenylsäure auf Blutdruck und Atmung bei der Katze. a Injektion von 3 mg Adenylsäure, b Injektion von 10 γ Histamin.

seinen Tiefpunkt erreicht hat, zu Atemstillstand, und zwar gleichbleibend in beiden Versuchen. Es handelt sich dabei wohl um eine durch die schnelle Injektion überschwelliger Mengen zustande kommende toxische Schädigung des Atemzentrums, die erst nach einiger Zeit bei nicht sehr verändertem Blutdruck durch die inzwischen erhöhte CO_2-Spannung im Blut wieder in Gang kommt. In diesem Fall ist also die toxisch bedingte Lähmung des Atemzentrums stärker als die peripher ausgelöste Regulation durch die Pressorezeptoren.

4. Sensible Reize aus dem Herzen.

Der venöse Füllungszustand des Kreislaufs ist nicht nur auf die Herzfrequenz allein wirksam, sondern macht in gleicher Weise, wie

BOUCKAERT und PANNIER[22] nachwiesen, Atemfrequenzreflexe. Eine stärkere Füllung des rechten Herzens führt zu einer Beschleunigung der Atmung. Die Versuche wurden an Doppelhunden mit gekreuztem Kreislauf durchgeführt, wobei recht erhebliche Unterschiede im venösen Füllungszustand realisiert werden konnten. Änderungen von solchem Ausmaß sind in unseren Versuchen ausgeschlossen. Jedenfalls reichen diese Faktoren nicht aus, um die enorme Frequenzsteigerung auch nur annähernd zu erklären. Jedoch wurden keine Messungen des venösen Drucks vorgenommen, so daß eine geringe Beeinflussung von dieser Seite nicht ausgeschlossen werden kann.

5. Sensible Hautreize.

Nach Ablehnung aller anderen frequenzsteigernden Faktoren bleiben nur noch sensible Hautreize als wesentlichste Ursache der im Beginn überhaupt nicht und später nicht allein stoffwechselbedingten Steigerung der Atemfrequenz übrig. Auch spricht die Schnelligkeit der Reaktion bei der ersten Bestrahlung (Abb. 1) für eine sensible Beeinflussung. GESELL[23] hat einen Zugang zum theoretischen Verständnis einer solchen Beeinflussung gegeben.

Welche Ursache nun auch als wichtigste für die Atembeschleunigung angesehen werden mag — die Hyperventilation führt zu einer gewaltigen Abrauchung der Kohlensäure aus dem Blut. Die Verarmung des Blutes an Kohlensäure bleibt aber nicht ohne Wirkung auf den Kreislauf. Die Erkenntnis dieser Zusammenhänge verdanken wir HENDERSON[13], der auch zur praktischen Anwendung dieser Tatsache beigetragen hat. Im CO_2-Mangel besteht ein geringer Venentonus, der zu einem verminderten Angebot an das rechte Herz führt. Diese Tatsache bedingt den Abfall des arteriellen Druckes, da das Blut in den venösen Speichern liegen bleibt. Schließlich kommt es infolge des Kollapses zu einer Schädigung des Atemzentrums, so daß die Atmung erlischt. Die Reaktionslosigkeit wird auch durch die im Blut nun schnell ansteigenden CO_2-Werte nicht wieder aufgehoben, die Schädigung ist irreversibel.

Ein mehr zufälliger Hinweis auf die Richtigkeit dieser Anschauung von der Bedeutung der Sensibilität bot sich uns folgendermaßen: In manchen Versuchen trat auf dem Höhepunkt der Bestrahlung beim Schwein eine erhebliche motorische Unruhe auf, die wegen der Gefährdung der Blutdruckschreibung durch intravenöse Gabe von Pernocton beseitigt wurde. Normalerweise kommt es auf die Gabe von 1—2 ccm Pernocton i.v. bei einem 10 kg schweren Tier zu einem langanhaltenden Blutdruckabfall mit Gefahr des Atemstillstandes. Im Falle der Abb. 7 und in zwei weiteren Fällen ergab sich bei frequentester Atmung aber die überraschende Tatsache, daß zwar der Blutdruck zunächst sank, zugleich aber die Atmung sich auf den Wert einer etwas gesteigerten

Normalatmung einstellte, also wesentlich langsamer wurde. Im Anschluß daran kam es zu einem deutlichen, anhaltenden Anstieg des Blutdruckes auf ein Niveau von über 100 mm Hg bei einem Ausgangsniveau von 60 mm Hg. In diesem Falle ist also anzunehmen, daß eine narkotische Dämpfung der sensiblen Impulse bzw. ihrer zentralen Verarbeitung eine niedrigere Atemfrequenz verursacht.

Noell und Schneider[24] machen für den paradoxen Effekt bei Sauerstoffgabe nach Sauerstoffmangel die Diskrepanz zwischen dem Karotissinusgebiet, das bei Sauerstoffmangel die Führung des Atem-

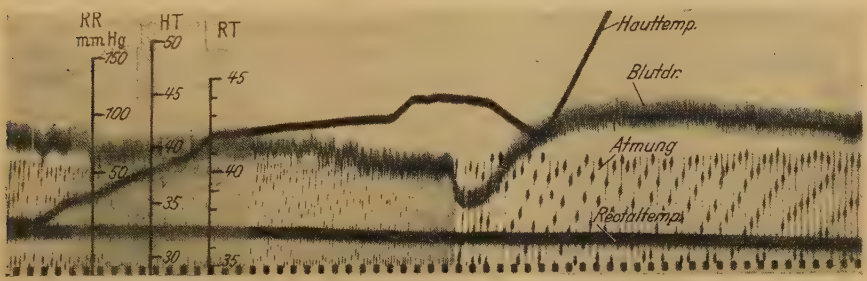


Abb. 7. Wirkung einer Injektion von 1,0 ccm Pernocton intravenös bei einem 14 kg schweren Schwein während einer Bestrahlung. Injektion bei Beginn des Blutdruckabfalls beendet.

zentrums übernimmt, und dem eigentlichen Atemzentrum selbst verantwortlich. Bei Gaben von Sauerstoff gibt das Karotisgebiet die Führung der Atmung ab, die aber vom Atemzentrum wegen der durch die Hyperventilation hervorgerufenen Hypokapnie nicht wieder angenommen wird. In unserem Fall läßt sich in ähnlicher Weise vorstellen, daß nach Atemstillstand infolge der Reizung durch periphere sensible Impulse eine Wirkung der Kohlensäure, die nach völliger Abrauchung eine ganze Zeit lang zur Anreicherung im Blut braucht, infolge des inzwischen eingetretenen Kollapses nicht mehr möglich ist.

Diese Herleitung des Kollapses nach Verbrennung in so akuter Form legt die Therapie solcher Zustände nahe: es kommt darauf an, durch eine Dämpfung der sensiblen Hautreize die Frequenzsteigerung der Atmung herabzumindern. Die Narkose oder zumindest eine stark schmerzlindernde, medikamentöse Therapie erscheint also angezeigt. Zugleich wäre zu versuchen, durch CO_2-Atmung eine Anreicherung der CO_2-Spannung im Blut herbeizuführen, um auf diese Weise zu einer Erhöhung des Venentonus beizutragen, der in gleicher Weise auch durch die üblichen Kollapsmittel günstig zu beeinflussen ist. Die Grenzen der therapeutischen Möglichkeiten sind aber relativ eng gezogen.

Die englische Literatur unterscheidet ein erstes, zweites und drittes Stadium der Verbrennungsschäden, wobei Wilson[27] das erste Stadium

das des primären Schocks nennt, der neurogen oder psychogen bedingt sei. Diese Auffassung begegnet sich mit der Einteilung von EWIG[26], der als erstes ein erethisches Vorstadium beschreibt. Das zweite Stadium ist das das sekundären Schocks mit anhaltender Blutdrucksenkung und Zirkulationsstörung, während im dritten Stadium die bakterielle Toxämie des Krankheitsbildes bestimmt. In unseren hier beschriebenen Versuchen handelt es sich um das erste Stadium, das in der Tat durch einen von der sensiblen Versorgung der Haut her ausgelösten Schock charakterisiert ist. Dieser Schock ist durch Narkotika zu bessern. Natürlich hat jede Abgrenzung verschiedener Stadien der patho-physiologischen Vorgänge nach Verbrennungen etwas Willkürliches. In Wirklichkeit gibt es nur in jeder Phase das Vorherrschen bestimmter Hauptursachen. Daneben zeigen sich Übergänge von einer Phase zur anderen, in denen beide pathogenetischen Hauptfaktoren nebeneinander bestehen. So wird der primäre Schock, den wir als eine durch sensible Hautreizung hervorgerufene Störung in der Atemregulation mit dadurch bedingtem Kreislaufkollaps ansehen, übergehen können in ein Stadium, in dem nun schon die in der neueren Literatur immer wieder erwähnte Ödembildung mit Plasmaverlust und Eindickung des Blutes die Hauptrolle spielen. Mit länger anhaltendem Kollaps wird es zu weiteren kollapsbedingten Organveränderungen kommen, die ihrerseits das Krankheitsbild verschärfen. Primäre Atemwirkungen von seiten starker sensibler Reize werden, soweit wir die Literatur übersehen können, nur von WIGGERS[25] bei einer Übersicht des gegenwärtigen Standes des Schockproblems erwähnt. Daß bisher bei Verbrennungen keine ähnlichen Wirkungen registriert wurden, liegt unseres Erachtens daran, daß die ersten Phasen einer intensiven Verbrennung bisher nicht beobachtet wurden. Die Tatsache, daß auch unter künstlicher Beatmung normaler Frequenz Kreislaufwirkungen bis zum Kollaps zustande kommen, führt uns zur Betrachtung weiterer Möglichkeiten der Kollapsgenese, die besonders erörtert seien.

Zusammenfassung.

An Katzen und Schweinen werden unter Registrierung von Kreislauf, Atmung, Sauerstoffsättigung und Temperatur Verbrennungsschädigungen gesetzt.

Dabei werden Rektaltemperaturen von 44° und Hauttemperaturen von 62° C im Bestrahlungsbezirk subkutan gemessen.

Die auffällige erste Reaktion ist eine starke Beschleunigung der Atmung mit nachdfolgendem Kollaps.

Es wird die Genese des Kollapses aus der Wirkung der pathologisch gesteigerten Atemfrequenz an Hand der neueren Vorstellungen von der Regulierung der Lungenventilation erörtert. Die Frequenz wird nicht

mehr durch CO_2 gesteuert, sondern diese normale Atemregulierung wird durchbrochen durch die Einwirkung sensibler Reize. Die mit der gesteigerten Frequenz verbundene Hypokapnie führt zum Kollaps mit deletärem Ausgang.

Dieser Mechanismus wird durch weitere im Kreislauf selbst auftretende Faktoren unterstützt.

Es werden die therapeutischen Folgerungen aus dieser Auffassung des Verbrennungskollapses gezogen, daß Narkose oder wenigstens starke Schmerzbekämpfung und CO_2-Atmung bessern können. Die Therapievorschläge beziehen sich nur auf die initialen Phasen eines Verbrennungsschadens. Sie werden nach Ablauf des primären Schocks durch weitere Maßnahmen abgelöst werden müssen.

Literatur.

[1] Zinck, K. H.: Pathologische Anatomie der Verbrennung. Jena 1940. — [2] Einhauser, M.: Klin. Wschr. **1938 I**, 127. — [3] Pfeifer, H.: Z. exper. Med. **10**, 1 (1913). — [4] Bernhard, E.: Z. exper. Med. **98**, 278 (1935). — [5] Gaddum, J. H.: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig 1936. — [6] Feldberg, W. u. E. Schilf: Histamin. Berlin 1930. — [7] Hildebrandt, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 197 (1938); **197**, 148 (1940). — [8] Barsoum, G. S. and J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **85**, 1 (1935). — [9] Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **89**, 257 (1937). — [10] Eppinger, H.: Klin. Wschr. **1934 II**, 1105 , 1137. — Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 53 (1932). — [11] Bartosch, R., W. Feldberg, u. E. Nagel: Pflügers Arch. **230**, 129 (1932); **231**, 616 (1933). — [12] Duesberg, R. u. W. Schröder: Pathophysiologie und Klinik der Kollapszustände. Leipzig 1944. — [13] Henderson, Y.: Atmung, Erstickung und Wiederbelebung. Leipzig 1941. — [14] Schweitzer, A.: Die Irradiation autonomer Reflexe. Basel 1937. — [15] Lindhard, J.: J. Physiol. (Brit.) **42**, 337 (1911). — [16] Kramer, K. u. O. Gauer: Pflügers Arch. **244**, 659 (1941). — [17] Geppert u. Zuntz: Pflügers Arch. **42**, 189 (1888). — [18] Euler, v., U. S., G. Liljestrand u. Y. Zotterman: Skand. Arch. Physiol. **83**, 132 (1939). — [19] Benzinger, Th.: Luftf.med. **4**, 425 (1940). — [20] Kramer, K.: Pflügers Arch. **244**, 593 (1941). — [21] Koch, E.: Verh. dtsch. Ges. Kreislfforsch. **1940**, 54. — [22] Bouckaert, J. J. and F. C. Pannier: Arch. internat. Pharmacodynam. **67**, 464 (1942). — [23] Gesell, R.: Schweiz. med. Wschr. **1941 I**, 398. — Amer. J. Phys. **133**, 694 (1941). — [24] Noell, W. u. M. Schneider: Luftf.-med. **5**, 234 (1941). — [25] Wiggers, C. J.: Physiol. Rev. **22**, 74 (1942). — [26] Ewig, W.: Verh. dtsch. Ges. Kreislfforsch. **1938**, 148. — [27] Wilson, W. C.: Edinb. med. J. **48**, 85 (1941).

Aus der Abteilung für experimentelle Pathologie und Therapie des William-G.-Kerckhoff-Herzforschungsinstituts Bad Nauheim.

Zur pathologischen Physiologie der Überhitzung.

II. Mitteilung.

Die Bildung kreislaufwirksamer, körpereigener Stoffe.

Von

Dr. med. Paul Schölmerich.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juli 1947.)

Besonders in den in der 1. Mitteilung näher beschriebenen Versuchen an Schweinen fiel auf, daß Atemstörungen relativ spät, gemessen am Zeitpunkt ihres Auftretens bei Katzen, also bei schon abgesunkenem Blutdruck, aufzutreten pflegten. Hier können Kreislaufstörungen ursächlich nicht restlos auf die Wirkung der Hyperventilation zurückgeführt werden. Es wurde die Vermutung ausgesprochen, daß zusätzliche Faktoren den Kreislauf belasten. Möglicherweise hängt diese Änderung gegenüber den Versuchen an Katzen damit zusammen, daß bei der Hitzeeinwirkung die Schweine niemals bei der ersten Überhitzung zu Tode kamen, sondern eine Zeitlang, oft sogar Stunden überlebten. Erst 4—5 Stunden nach Versuchsbeginn trat im Verlauf einer zweiten oder dritten Anstrahlung der tödliche Kollaps ein. Es läßt sich vorstellen, daß im Verlauf dieser über längere Zeit hin ausgedehnten Schädigungen morphologische Änderungen zustande kommen, die zugleich mit humoralen Umstellungen verknüpft sind. Aus demselben Grunde sind die pathologisch-anatomischen Ergebnisse an Schweinen wesentlich deutlicher ausgesprochen als an Katzen.

Seit Ackermann[1] das Histamin in seiner physiologischen Wirksamkeit erkannt hat, wurden zahlreiche Wirkungen im Organismus auf seine Bildung bezogen. Der anaphylaktische Schock wird von vielen Autoren mit der Freisetzung von Histamin bei der Antigen-Antikörper-Reaktion erklärt [2,3], die lokale Rötung, Quaddelbildung und der rote Hof seit Ebbecke[4] auf gefäßaktive, später H-Substanzen genannte Eiweißverbindungen zurückgeführt. Zuletzt hat man auch andere toxische Kollapsformen u. a. den Verbrennungskollaps, durch eine Überschüttung des Organismus mit Histamin begreiflich machen wollen[5]. Einen neuen Aufschwung nahm die Erforschung dieser Zusammenhänge,

seit Barsoum und Gaddum[6] und Code[7] neue vereinfachte Methoden zur Histaminbestimmung im Blut entwickelten.

Methodik.

Wir untersuchten in 11 Fällen das ungeronnene Blut der in der 1. Mitteilung benutzten Versuchstiere vor und nach Bestrahlung auf seine Wirksamkeit am Meerschweinchen-Dünndarm. Dabei wurde eine von Ackermann[8] angegebene Anordnung benutzt, die es ermöglicht, 3—4 cm lange Darmstückchen, zweckmäßigerweise vom distalen Ende des Dünndarms, in einer Tyrodelösung von 20 ccm so aufzuhängen, daß die Durchspülung des Glasgefäßes von unten zu einer raschen Erneuerung der Suspensionsflüssigkeit führt. Bei langsamem Zulauf der vorgewärmten Tyrodelösung wird die alte Flüssigkeit nach oben über ein seitlich angebrachtes Rohr zum Abfluß gebracht. Die Anordnung befindet sich in einem Wasserbad von 38,5° C, so daß die Badeflüssigkeit eine konstante Temperatur von 37,5—38° C besitzt.

In Vorversuchen erwies es sich als zweckmäßig, jedesmal zur Testung verschiedenartiger Blutmengen frische Darmstückchen zu nehmen. Zwar geben Werle und Herrmann[9] an, es sei möglich, ohne Einbuße an Empfindlichkeit nicht sofort gebrauchte Darmstückchen in eiskalter Tyrodelösung aufzubewahren und zum Versuch ein entsprechend kurzes Stück jeweils abzuschneiden; in einigen Fällen gelang es uns auch mit dieser sparsamen Methodik empfindliche Darmstückchen, nach einer längeren Wartezeit unter langsamer Erwärmung, zu erhalten. In der Regel standen diese Dünndarmstückchen jedoch an Kostanz der Empfindlichkeit den frisch entnommenen wesentlich nach.

Die Aufhängung der Darmstückchen geschah unter Belastung mit etwa 2 g am Hebelschreiber so, daß Kontraktionen der Längsmuskulatur im Verhältnis 1:7 auf einem Rußkymographion aufgeschrieben wurden.

Die Zugabe der Testlösung erfolgte mit kalibrierter Spritze und langer Injektionsnadel, wobei die in jedem Fall notwendige Sauerstoffdurchperlung der Suspensionslösung für rasche Verteilung in der Lösung sorgt. Die Sauerstoffzufuhr geschieht am einfachsten unter Benutzung eines das Darmstückchen unten im Glasgefäß fixierenden umgebogenen Glasröhrchens.

Die Frage der Atropinzugabe wird in vielen Histaminarbeiten nicht erwähnt, oder die Dosierung wird nicht angegeben. Dabei ist die Zugabe von Atropin von erheblicher Bedeutung für die Auswertung eines solchen Versuches, da einmal die Wirkung azetylcholinhaltiger Substanzen so ausgeschlossen werden kann, andererseits aber die Empfindlichkeit des Darmes selbst auch für andere körpereigene Substanzen sich wesentlich vermindert. Es gibt eine jeweils zu bestimmende Grenzdosis, die soeben die Wirkung kleiner Azetylcholinmengen unterdrückt, aber nur unwesentlich unempfindlicher gegen Histamin macht. Diese Dosis liegt bei der üblichen Empfindlichkeit des Darmes bei einer Konzentration von 0,1—1 γ auf 20 ccm, also einer Konzentration von 1:20 Millionen. Umgekehrt gibt es auch eine gegen Histamin spezifisch unempfindlich machende Substanz, die in der gleichen Größenordnung den Histamineffekt auslöscht, während die Empfindlichkeit gegen Azetylcholin erhalten bleibt, das später näher beschriebene Antergan.

Die Blutentnahmen erfolgten vor Bestrahlung (Normalblut), nach erster Bestrahlung, in tiefem Kollaps und nach dem Tod des Versuchstieres aus dem rechten Herzen unmittelbar. Eine Menge von 0,5 ccm reicht im allgemeinen aus, um bei normaler Darmempfindlichkeit deutliche Wirkungen hervorzurufen.

Bei dem relativ schnellen Ablauf des Verbrennungsversuches an Katzen ließen sich die fortlaufend entnommenen Blutproben parallel zum eigentlichen

Verbrennungsversuch am Darm testen, obwohl dabei die wesentliche Schwierigkeit bestand, einen genügend empfindlichen Darm im richtigen Augenblick zur Verfügung zu haben. Bei der längeren Dauer der Verbrennungsversuche an Schweinen erwies es sich aber als notwendig, das Blut in Vetren aufzufangen (10 mg auf 5 ccm), im Eisschrank aufzubewahren und nach dem Bestrahlungsversuch in einem besonderen Arbeitsgang auszutesten.

Diese Methode hatte zwei Schwierigkeiten. Zunächst mußte durch Vorversuche ausgeschlossen werden, daß Vetren in solcher Dosierung selbst eine Darmwirkung besitzt. Das ist in der Tat nicht der Fall. Zweitens besteht natürlich die Gefahr, daß während der 5—10 Stunden dauernden Aufbewahrung im Eisschrank, bei der Abkühlung und der Wiedererwärmung Reaktionen im Blut ablaufen, die in der Testung nicht erfaßt werden. Die uns selbst überraschende Übereinstimmung in den Ergebnissen sofort getesteter und nach Aufbewahrung im Eisschrank untersuchter Blutproben deutet jedoch darauf hin, daß sich keine wesentlichen Veränderungen ergeben. Das Blut darf natürlich nicht gefrieren, so daß eine Kältehämolyse eintritt, und damit aus den roten Blutkörperchen darmwirksame Körper freigesetzt werden.

Die Testversuche wurden mit frischem, ungeronnenem Gesamtblut vorgenommen, ohne chemische Aufarbeitung, Zentrifugierung oder Isolierung einzelner Blutbestandteile. Dabei hat uns die Vorstellung geleitet, daß, wenn körpereigene Substanzen wirklich Kreislaufwirkungen machen sollen, sie in freier Form im Blut aufzufinden sein müssen. Es sollten nicht die absoluten Mengen an Histamin erfaßt werden, die in der seit CODE üblichen Methodik extrahiert werden, in einem Verfahren, das kein anderer Stoff überhaupt übersteht. Bei diesen Versuchen wird an Histamin alles erfaßt, was in gebundener, also pharmakologisch unwirksamer und in freier, wirksamer Form im Blut vorhanden ist. DALE[10] und BURCHARD[11] haben auf diesen Zusammenhang hingewiesen und den Optimismus bezüglich solcher Testmethoden wesentlich gedämpft.

Diese Versuche beweisen lediglich, daß überhaupt Histamin vorkommen kann und auch bei Bestrahlungen, z. B. Diathermie, lokal in Erscheinung tritt[12]. HOLZ[14] hat die Bildung von Histamin aus Histidin im Organismus nachgewiesen. WERLE und HERRMANN[9] bestätigen und erweiterten die Versuche hinsichtlich der Organe, in der die Bildung möglich ist. Daß aber Histaminmengen, wie sie EICHLER und BARFUSS[15, 16] in der etwas modifizierten Methode nach CODE nachweisen, nicht in pharmakologisch wirksamer Form vorgelegen haben, liegt auf der Hand, da es sich in bestimmten Fällen von Anoxämie um Steigerungen bis zu 480 γ je Kubikzentimeter Blut handelt. Bei solchen Mengen wären jedoch die Tiere mit Sicherheit an einem Histaminkollaps zugrunde gegangen. Zugleich spielen bei Untersuchungen des Histamingehaltes nach Beeinflussung der Haut mit Reizmitteln Blutverschiebungen und Änderungen im Blutstatus eine große Rolle. CODE wies nach, daß die Leukozyten besonders histaminhaltig sind. So erklären sich manche Befunde nach Hautreizung[12].

Die nacheinander folgende Testung verschiedener Blutmengen in einem Arbeitsgang bringt den Vorteil mit sich, daß während der relativ kurzen Zeit der Testversuche die Empfindlichkeit des Darmes auf ungefähr gleicher Höhe bleibt. Es muß ohnehin nach jeder Histamingabe mindestens 5 Min. gewartet werden, ehe eine neue Bestimmung der Empfindlichkeit durchgeführt werden kann. Über 12—15 verschiedene Testungen sind an einem Darm kaum möglich, da im Verlauf einer Stunde die Empfindlichkeit meist merklich abnimmt. Oft wechselt allerdings ohne jeden ersichtlichen Grund die Empfindlichkeit sprunghaft, oder es kommen plötzlich Tonuszunahmen und starke motorische Aktivität scheinbar spontan zustande. Diese Vorgänge harren noch eingehender Bearbeitung.

Ergebnisse.

Die Untersuchungen wurden am Blut von 3 Katzen und 8 Schweinen vorgenommen.

Abb. 1 gibt den Verlauf einer Testserie mit *Katzenblut* wieder. Bei erheblicher Empfindlichkeit des Darmstückchens gegenüber Histamin (relativ hoher Ausschlag auf Histamin 1:200 Mill.) zeigt das Normalblut einen Ausschlag ganz ähnlichen Charakters: steiler Anstieg und ebenso schneller Abfall bei Spülung. Durch die Spülung stellt sich der alte

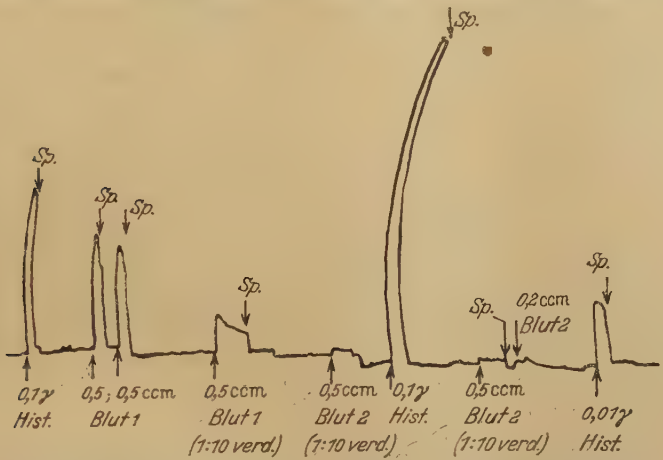


Abb. 1. Testung von Normal- und in tiefem Kollaps entnommenem Blut der Katze. *Blut 1* Normalblut, *Blut 2* Kollapsblut. *Sp* Spülung mit vorgewärmter Tyrodelösung.

Tonus wieder her. Eine sofort danach vorgenommene zweite Bestimmung mit der gleichen Blutmenge ergibt einen etwas verminderten Anstieg, sonst aber die gleichen Verhältnisse. Um den Ausschlag nicht so groß werden zu lassen, wurde in der nächsten Testung das Blut 1:10 mit Tyrode verdünnt. Die Reaktion besteht in schneller Tonuszunahme, langsamerem Abfall und unter Spülung ebenso schnellem Rückgang auf das Ausgangsniveau. Nach einer Pause von 30 Min. wird eine dem Tier nach der Bestrahlung in tiefem Kollaps entnommene Blutmenge ausgetestet: es ergibt sich eine unbedeutende Zunahme des Tonus, obwohl, wie die nachfolgende Histamingabe zeigt, die Empfindlichkeit des Darmes gegenüber Histamin noch größer geworden ist. Die beiden nächsten Blutproben 0,5 ccm 1:10 verdünnt und 0,2 ccm unverdünnt bestehen wiederum aus Kollapsblut. Trotz maximaler Empfindlichkeit gegenüber Histamin (der letzte Anstieg entspricht einer Histaminmenge von 1:2 Milliarden) ergibt sich in beiden Fällen der gleiche, kaum sichtbare Anstieg im Tonus.

In einem weiteren Fall zeigte sich unter Atropinzusatz folgendes: Bei normaler Empfindlichkeit gegenüber Histamin kommt es unter

Atropin zu einer Lähmung der Spontanmotorik. Die Zugabe von Normalblut (unverdünnt) bringt einen geringen, bleibenden Anstieg des Tonus und eine deutliche Erhöhung in der Peristaltik mit sich. Die Zugabe von Kollapsblut unter Atropin zeitigt aber praktisch keinerlei Erfolg.

Offenbar ist ein im Normalblut vorhandener, die Atropinsperre durchbrechender Stoff, der die Peristaltik anregt, im Kollapsblut vermindert. Das zeigt sich noch deutlicher am Darm ohne Atropin: es kommt nicht nur zu keiner Anregung der Peristaltik, sondern zu direkter Hemmung.

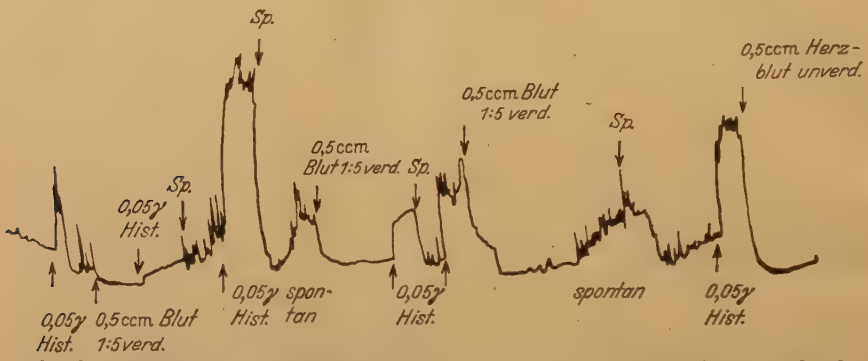


Abb. 2. Wirkung von Kollapsblut (*Blut 2* der Abb. 2) auf den spontan oder durch Histamin erhöhten Tonus des Meerschweinchendünndarms. Die letzte Blutgabe enthält dem rechten Herzen der Katze entnommenes Blut.

In Abb. 2 wurde Kollapsblut allein hinsichtlich seiner Wirkung an einem empfindlichen Darm untersucht. 0,05 γ Histamin bringen eine deutliche Zunahme des Tonus mit starker Anregung der Spontantätigkeit der Darmmuskulatur zustande, die auch nach Erneuerung der Suspensionsflüssigkeit erhalten bleibt. Kollapsblut lähmt augenblicklich diese Tätigkeit der Längsmuskulatur und macht bei Zugabe von Histamin in die noch Blut enthaltende Flüssigkeit eine sehr starke, durch Spülung reversible Verminderung der Empfindlichkeit gegenüber Histamin. Die nächste Blutzugabe bringt auf dem Höhepunkt einer spontan eintretenden Tonuszunahme, die als Spüleffekt häufiger zur Beobachtung kam, einen sofortigen Abfall auf den Ausgangspunkt und völlige Lähmung spontaner Tätigkeit mit sich. Auf dem Höhepunkt der nächsten Histaminreaktion wird Kollapsblut zugegeben, das auch den durch Histamin gesteigerten Tonus rasch auf sein Normalmaß zurückführt, aber in weiterem Verlauf wieder zu einem Anstieg des Tonus mit Zunahme der Peristaltik führt. Nach Erneuerung der Spülflüssigkeit ist die alte Empfindlichkeit gegenüber Histamin wieder vorhanden. Mit 0,5 ccm Herzblut (unverdünnt) wird der eben beschriebene Effekt in noch deutlicherer Form wiederholt.

Die Versuche der Abb. 2 wurden in der Form wiederholt, daß diesmal Normal- und Kollapsblut am selben Darm getestet wurden. Bei starker Spontanperistaltik erweist sich das Darmstückchen als sehr histamin- und acetylcholinempfindlich. Normalblut, auf dem Höhepunkt einer spontanen Tonuszunahme gegeben, bewirkt einen schnellen Abfall des Darmtonus; mit einiger Latenz kommt dann aber unter äußerst starker Vermehrung der Peristaltik eine Zunahme des Tonus zustande. Beide Wirkungen ebben langsam ab. Die Empfindlichkeit des Darmes hat sich gegenüber Histamin eher etwas vermindert: die 5fach größere Menge an Histamin ergibt einen etwa 3mal so großen Ausschlag wie bei der ersten Histaminprobe. Kollapsblut dagegen setzt den Histamintonus sofort auf die Hälfte herab und hält ihn etwas über dem Normalniveau.

Kollapsblut hemmt also die Spontanperistaltik (im Gegensatz zu Normalblut), setzt den durch Histamin erhöhten Tonus sofort herab und vermindert die Empfindlichkeit des Darmes für Histamin.

Versuche mit Schweineblut bestätigen dies Verhalten, so in einem Versuch, bei dem im Eisschrank aufbewahrtes Blut ohne Atropinzusatz verwandt wurde. Bei der üblichen Empfindlichkeit gegenüber Histamin gibt Normalblut einen sehr schnellen Anstieg mit anschließendem, stufenförmigem, fast exponentiellen Abfall des Tonus. Spülung führt die Kurve auf das Normalniveau. Danach ist die Empfindlichkeit gegenüber Histamin etwas vermindert und die Spontantätigkeit gleichfalls wenig verkleinert. Bei Zugabe von 0,5 ccm Blut, das im tiefen Kollaps dem Tier entnommen wurde, ist dieser initiale steile Anstieg völlig verschwunden, es bleibt eine *verlangsamte Tonuszunahme* und eine anschließend ebenso zeitlich verzögerte Abnahme. Die Empfindlichkeit des Darmes gegenüber Histamin nimmt im Verlaufe des ganzen Versuches konstant in geringem Maße ab. Postmortal gewonnenes Blut zeigt praktisch kaum noch eine Veränderung im Tonus und in der Spontantätigkeit. Besonders auffällig ist in diesem Versuch die Übereinstimmung in der Reaktion auf Histamin und Normalblut in ihrem Typus. Im Kollapsblut ist diese histaminartige Substanz aber verschwunden.

Nicht in jedem Fall kommt es bei Zugabe von Normalblut zu einer so schnellen Zunahme des Tonus. Abb. 3 zeigt einen weiteren Testversuch, bei dem von vornherein der schnelle Anstieg fehlt, sich aber gleichfalls deutliche Änderungen im Tonus und in der Motorik zeigen in dem Sinne, daß bei Normalblut sich eine stärkere Zunahme des Tonus gegenüber der Änderung bei Kollapsblut bemerkbar macht. Der Einwand, daß sich die im weiteren Versuchsverlauf immer schwächer werdenden Wirkungen des Blutes durch Veränderungen im Blut erklären, die durch die längere Wartezeit gegeben sind, ließ sich in Abb. 4 entkräften.

Blut 1 ergibt hier am Ende des Versuches praktisch den gleichen Anstieg wie zu Beginn. In Abb. 3 ist die Empfindlichkeit gegenüber

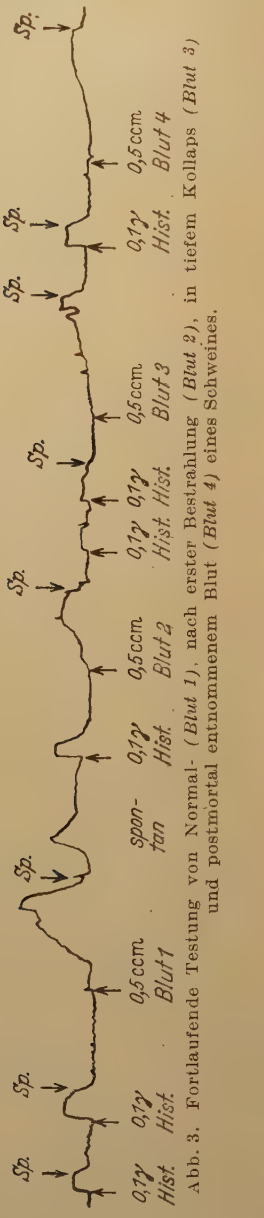


Abb. 3. Fortlaufende Testung von Normal- (*Blut 1*), nach erster Bestrahlung (*Blut 2*), in tiefem Kollaps (*Blut 3*) und postmortal entnommenem Blut (*Blut 4*) eines Schweines.

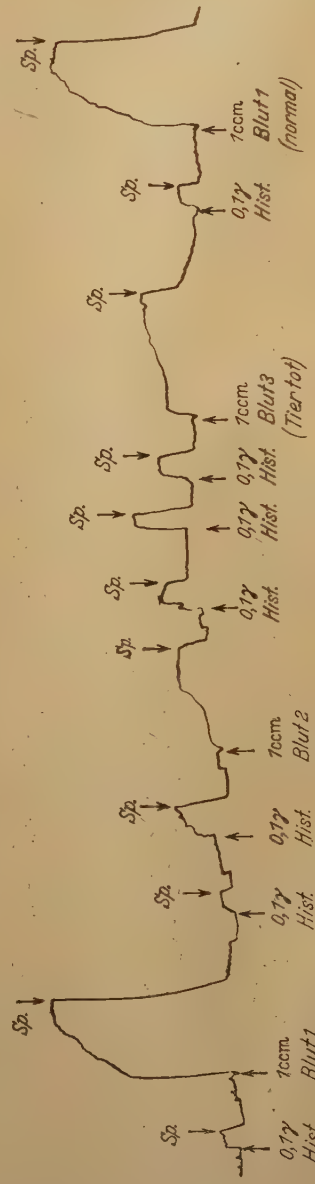


Abb. 4. Wirkung von Normal-, im Kollaps und postmortal entnommenem Schweineblut. Gleichbleibende Empfindlichkeit des Darmstückes gegenüber dem Versuchsbeginn.

Histamin nach Spülung und Entfernung des Kollapsblutes vermindert Im Gegensatz dazu ist in Abb. 4 schon nach der ausgiebigen Reaktion

auf Normalblut eine Verminderung der Empfindlichkeit gegenüber Histamin vorhanden, die sich nach mehrfachen Spülungen und Histamingaben beseitigen läßt.

Die restlichen 5 Fälle mit Schweineblut führten zu den gleichen Ergebnissen, so daß an der Tatsache einer geringeren Tonussteigerung des Kollapsblutes gegenüber dem Normalblut nicht gezweifelt werden kann.

Besprechung der Ergebnisse.

In keinem der 11 auf ihre Wirksamkeit am Meerschweinchendünndarm untersuchten Fälle kam es zu der Reaktion, die bei einer ausschließlichen Histaminvermehrung im Blut hätte eintreten müssen. An Stelle der erwarteten Tonuszunahme findet sich bei dem während des Kollapses oder postmortal gewonnenen Blut ein relativ deutlich verminderter Anstieg oder sogar eine Abnahme des Tonus. Zugleich nimmt, wenn überhaupt eine Wirkung auf die Spontanmotorik da ist, diese eher ab als zu*.

Daß in den akuten Fällen von Verbrennungskollaps Histamin eine wesentliche Bedeutung haben kann, ist auch deshalb nicht sehr wahrscheinlich, weil die Infusion reinen Histamins bei verschiedenen Versuchstieren gegensätzliche Wirkungen hat. Beim Kaninchen und Meerschweinchen kommt ein Blutdruckanstieg zustande, zugleich eine Bronchokonstriktion, die unter Umständen durch Sauerstoffmangel zum Tode führt, bei Katze und Hund jedoch tritt ein reiner Blutdruckabfall ohne primäre Atemwirkung ein. Die als Folge einer Verbrennung auftretenden Atem- und Kreislaufstörungen verlaufen jedoch bei Katze und Schwein nicht grundsätzlich verschieden, eine Tatsache, die bei Histamin als Ursache in Anbetracht der verschiedenen Reaktionsfähigkeit der beiden Tiergruppen auf dieses biogene Amin nicht verständlich wäre.

Wense[25] konnte zudem nachweisen, daß an Tieren, die gegen Histamin unempfindlich, wenn man will „immunisiert" waren, Verbrennungen ebenso leicht zu einem Kollaps mit tödlichem Ausgang führten, wie an nicht vorbehandelten Tieren. Auch Bernhard-Kreis[26] kommt auf Grund experimenteller Untersuchungen mit Gewebsmazeraten zu einer Ablehnung der Histamintheorie der Verbrennung. In

* Die bisher bekannt gewordenen Histaminvermehrungen beziehen sich übrigens auf Blutentnahmen lange Zeit, Tage oder Wochen, nach dem thermischen Trauma. Es wurden dabei Histaminvermehrungen um einige Gamma festgestellt, die ohne Zwang auch in anderer Weise erklärt werden können. Wie leicht das Histamin schwankt, haben Werle und Effkemann[17] nachgewiesen, die z. B. Histaminunterschiede im Blut von Rauchern und Nichtrauchern, Schwangeren und Nichtschwangeren[18] fanden, während Eichler[15] unter bestimmten Bedingungen der Anoxämie im Tierexperiment außerordentlich hohe Werte fand, die bei Hyperventilation bis auf Bruchteile eines Gamma sanken.

einer neuen Zusammenfassung über Verbrennungsschäden wird von C. R. Lam [38] die Wirksamkeit histaminartiger Substanzen abgelehnt.

Zipf [19] und Rigler [20] vertreten seit langem die Auffassung, daß ein anderes ebenfalls wirksames Kreislaufprodukt, die Adenylsäure oder das Adenosin die meisten dem Histamin zugesprochenen Reaktionen im Organismus hervorruft.

Neuere Versuche haben die Wirksamkeit der verschiedenen Anteile von Adeninderivaten direkt nachgewiesen (Fleisch und Domenjoz [27], Gropp [28]). Außerordentlich interessante Versuche sind von Leach, Peters und Rossiter [29] mitgeteilt worden, die eine Beziehung zwischen histologischen und biochemischen Veränderungen an Tieren nach lokaler thermischer Schädigung nachweisen konnten. Es zeigte sich, daß bei Hitzeeinwirkung von etwa 60° C sich neben der Zone völliger Koagulation eine randständige Zone histologischer Destruktion fand, in der die Auflösung und Resorption zunächst mit Pyronin färbbarer Plasmaanteile, dann auch von Zellkernsubstanz sichtbar wurde. Die aufgelösten Substanzen konnten in der Lymphbahn nachgewiesen werden. Eine Beziehung zu den von Lewis [41] sog. H-Substanzen und zu den den Zellkernen entstammenden Adenosinverbindungen wird behauptet und ist auch vorstellbar. Uns erscheint dieser Nachweis von gewebseigenen Abbausubstanzen sehr wesentlich.

Bisher sind keine Beobachtungen über einen Zusammenhang zwischen Adenylsäure und jenen Schockformen dargestellt, die mit Steigerung der Gefäßdurchlässigkeit und Bluteindickung einhergehen. In unseren Fällen spielen sich die Folgen der Verbrennung aber so schnell ab, daß es gar nicht zu deutlichen Veränderungen im Blutbild kommt, was wir in einigen Fällen kontrollierten. Dafür ist die Zeit zwischen Schädigung des Organismus und Blutentnahme im Kollaps zu kurz.

Stellen wir die beobachteten Wirkungen noch einmal zusammen:

1. Normalblut bewirkt Zunahme des Tonus von Histamincharakter oder, wenn dieser histaminartige Anstieg in der Kurve fehlt, doch eine Anregung der Peristaltik bei erhöhtem Tonus.

2. Im Kollaps oder postmortal entnommenes Blut macht einen gegenüber dem Normalblut bedeutend geringeren Anstieg des Tonus oder Lähmung der Peristaltik bei praktisch unverändertem Tonus.

3. Wird Kollapsblut auf dem Höhepunkt einer spontanen oder durch Histamin hervorgerufenen Tonussteigerung zugegeben, erzeugt es sofortigen Abfall des Tonus auf Normalniveau mit anschließender Lähmung der Peristaltik.

4. Wird Histamin während der Einwirkung von Kollapsblut in die bluthaltige Suspensionslösung gegeben, so zeigt sich eine starke Hemmung der Empfindlichkeit gegenüber Histamin.

5. Die Einwirkungen von Blutgaben auf die Empfindlichkeit gegenüber Histamin lassen sich mit einer Latenz von wenigen Minuten durch Spülungen beseitigen*.

Aus diesen Versuchen läßt sich trotzdem nicht mit Sicherheit ausschließen, ob sich nicht die Vermehrung des Histamins hinter einer durch andere Faktoren herabgesetzten Empfindlichkeit des Darmes verbirgt. Es wäre denkbar, daß im Blut kreislaufwirksames Histamin in großer Menge vorhanden ist, während es sich nur am Meerschweinchendarm durch eine mehr oder weniger ausgedehnte Vermehrung von Eiweißprodukten und die damit verbundene Hemmung des Darmes nicht nachweisen läßt. Aber diese Auffassung erscheint gezwungen und ist wenig wahrscheinlich. Um immerhin den Einfluß solcher Histaminmengen nachzuweisen, stellten wir einige Versuche mit einem Präparat an, das unter dem Namen Bradil von der I.G. Farbenindustrie vertrieben, unter dem alten Namen Antergan aber in der Literatur bekannt ist**. In Vorversuchen wurde an Meerschweinchen die Wirksamkeit untersucht. Antergan ist in einer Dosierung, die der angewandten Histaminmenge entspricht, imstande, die sich im Bereich der Lunge abspielenden Histaminreaktionen völlig zu koupieren. Bei vorheriger Gabe kommt überhaupt kein Histamineffekt zustande. Antergan ist aber auch in der Lage, auf dem Höhepunkt der Bronchokonstriktion den Zustand augenblicklich zu beseitigen. In unseren Versuchen konnte irgendeine Wirkung von Antergan bei Injektion vor, während oder nach Bestrahlung nicht beobachtet werden. Wesentliche Histaminmengen können also an der Genese des Kollapses kaum beteiligt sein.

Schwerer vorstellbar ist jedoch, daß tatsächlich eine *Verminderung* pharmakologisch wirksamen Histamins vorliegt. Nur die Behauptung Eichlers von der Rolle der Hyperventilation[15] gäbe einen Zugang zum

* *Anmerkung bei der Korrektur:* Nach Abschluß dieser Arbeit wurden wir auf eine ältere Publikation aufmerksam gemacht, in der F. Kok [Z. exper. Med. **14**, 220 (1921)] am relativ unempfindlichen Rattendarm und am sehr empfindlichen Meerschweinchenuterus unterschiedliche Wirkungen von Blutplasma bzw. Blutserum vor und nach Verbrühung von Hundepfoten vermißt. Die Unterschiede zu den hier beschriebenen Versuchen bestehen darin, daß unter der Einwirkung strahlender Wärme bei einer subkutan gemessenen Temperatur von über 70° C noch wesentlich höhere Hauttemperaturen erzielt werden, während in der oben erwähnten Arbeit die Verbrühungen durch eine Temperatur von etwa 60° C erzielt werden. Außerdem haben wir Vollblut verwandt, während Kok Plasma bzw. Serum geprüft hat. Es liegt nahe, daran zu denken, daß die wirksame Substanz an die Gegenwart geformter Blutbestandteile gebunden ist, was von Code z. B. für das Histamin nachgewiesen wurde. Darüber hinaus wäre die Frage einer Nachprüfung wert, ob nicht die Änderung des Ionenmilieus durch Hinzufügen von Natrium citricum den Darm bzw. Uterus wesentlich unempfindlicher macht.

** Wir danken Prof. Ackermann-Würzburg und der I.G. Farben für Überlassung von Substanz.

Verständnis, jedoch müßten sich dann nach eintretendem Atemstillstand die von ihm beschriebenen hohen anoxischen Werte im postmortal gewonnenen Blut nachweisen lassen, was in keiner Weise der Fall ist.

Die in mehreren Versuchen bei Normalblut sichtbar werdenden schnellen histaminähnlichen Tonuszunahmen beruhen wohl, da sie auch bei im Eisschrank aufbewahrtem Blut vorkommen, auf den normalen Mengen von 0,1—0,5 γ Histamin je Kubikzentimeter Blut[23]. Azetylcholin als Ursache der Erscheinungen ist unwahrscheinlich, da die Spaltung im allgemeinen so schnell abläuft, daß nach stundenlanger Aufbewahrung im Eisschrank keine Wirksamkeit von Azetylcholin mehr zu erwarten wäre.

So führen alle Überlegungen immer wieder zu der Vorstellung, daß tatsächlich eine Vermehrung der Adenosinverbindungen vorliegt, die allein beide Wirkungen: Blutdrucksenkung und Darmwirksamkeit erklärt. Es soll damit nicht behauptet werden, daß die Adenosinverbindungen imstande wären, allein das gesamte Erscheinungsbild des Verbrennungskollapses zu erklären. So lassen sich die Atemfrequenzänderungen schon nicht auf Adenosin oder ähnliche Verbindungen zurückführen.

Eine so massive Schädigung veranlaßt eben den Organismus zu mannigfachen Reaktionen, von denen je nach Intensität des krankmachenden Prozesses und je nach dem zeitlichen Abstand vom thermischen Trauma der einen oder anderen der Vorrang gebührt. Beteiligt sind aber alle. Auf die Verschiedenheit in der Wahl des Zeitpunktes, in dem die Folgeerscheinungen von Verbrennungen experimentell oder klinisch erhoben werden, beruht sicherlich ein Großteil der in der Literatur angegebenen Widersprüche und gegensätzlichen Meinungen. In der I. Mitteilung wurde der Atmung bei den ganz akut und sehr rasch zum Tode führenden Formen der thermischen Schädigung die wesentliche Rolle zugesprochen. Bei etwas verzögertem Ablauf hat es den Anschein, als ob eine Vermehrung kreislaufaktiver Substanzen, die dem gesteigerten normalen oder dem lokal pathologischen Zellzerfall entstammen, mehr in den Vordergrund treten. Es ist wahrscheinlich, daß bei noch protrahierterer Einwirkung von Verbrennungsschäden das Herz selbst oder die Nebenniere, welcher von manchen Autoren[24] sogar die Hauptrolle zugesprochen wird, die Symptomatik bestimmen. Eine Kenntnis der gesamten Reaktionen jedoch versetzt uns erst in die Lage, eine ebenso mannigfache Therapie einzuleiten.

Bei den *morphologischen Veränderungen* fiel öfter auf, daß die der Bauchdecke unmittelbar anliegenden Teile des Intestinums eine knorpelig harte Konsistenz hatten. Starke Gefäßinjektionen der Darmschlingen wiesen auf die im Bauchraum wirksam gewordene Temperaturerhöhung hin. Bei der Veränderung an den Eingeweiden handelt es sich wohl um Eiweißgerinnungen, nicht um eine Zunahme des Darmtonus, wie ihn Histamin zustande bringen könnte. Die sonst beobachtete

Wirkung an der bestrahlten Bauchhaut bestand in intensiver Rötung, zunehmender ödematöser Durchtränkung der Kutis und Subkutis mit schließlicher Dunkelverfärbung des gesamten bestrahlten Bezirkes. Nach 10—15 Min. lang einwirkender Anstrahlung wurde die Konsistenz der Epidermis bretthart in ihren äußeren Partien, sulzig-ödematös in ihren tieferen, fettreicheren Anteilen. Auch an der Leber bestanden die makroskopisch sichtbaren Änderungen nur in Verfärbung und einer festeren Konsistenz der der bestrahlten Bauchhaut unmittelbar anliegenden Teile. Sichere Zeichen von Stauungsleber oder -niere waren nicht vorhanden. Fernwirkungen traten in den akut verlaufenden Fällen seltener auf. Gelegentlich kamen subendokardiale Blutungen oder Veränderungen an den Lungen im Sinne einer gallertigen Konsistenzänderung zur Beobachtung. Von einer eigentlichen Bronchokonstriktion konnte aber keine Rede sein.

Immerhin liegt in diesen makroskopischen Befunden ein wesentlicher Hinweis auf die ganz andere Art der Einwirkung *strahlender Hitze* gegenüber der Verbrennung durch Berührung mit der heißen Materie. Die strahlende Hitze besitzt eine auffällige Tiefenwirkung, so daß lokale Schäden auch an den unter dem Bestrahlungsbezirk gelegenen Organen auftreten (Leber, Herz, Lungen, Darm). Durch ihre Lagebeziehung zur Strahlungsrichtung der Hitze unterschieden sich diese Schädigungen schon von den allgemeinen, etwa kollapsbedingten äußerlich sichtbaren Organveränderungen: es sind Eiweiß-Koagulationen.

Daß Schäden auch am Herzen bei strahlender Hitzeeinwirkung vorkommen, die nicht durch einen Kollaps bedingt sind, ließ sich aus den laufend aufgenommenen Elektrokardiogrammen erkennen: In vielen Fällen zeigten sich monophasische Deformierungen, die zwar an eine akute Koronarinsuffizienz erinnern, deren Deutung aber als Zeichen lokaler oberflächlicher Schädigung mit großer Wahrscheinlichkeit richtiger ist. Relativ häufig ließ sich ein A-V-Block beobachten, der mit nachlassender Strahlungsintensität wieder verschwand. Die übrigen Veränderungen in Form von geringen ST-Senkungen, Verkleinerung oder Vergrößerung von P und R sind zum Teil durch die Tachykardie erklärt, zum Teil entziehen sie sich einer greifbaren Erklärung. Jedenfalls deuten die ausgesprochenen Leitungsblockaden mit schenkelblockartigen Zuständen manchmal auf ganz massive Herzschäden.

Diese Befunde stehen in Übereinstimmung mit den von Ewig[42] mitgeteilten. Fujiwara[43] beschreibt dagegen Ekg-Abweichungen, die ebenso auch durch den als Verbrennungsfolge auftretenden Kollaps angesehen werden können.

Ein Fall war insofern besonders interessant, als im Beginn der Bestrahlung nach der initialen Rötung plötzlich weiße Quaddeln wie nach Insektenstichen auftraten, die sich aber schließlich wie Brandblasen fetzig abhoben und in die oben beschriebenen Veränderungen

übergingen. Für diese ersten *lokalen* Reaktionen kommt am ehesten eine Histaminfreisetzung oder -neubildung in Frage, ohne daß eine Ausschüttung in den allgemeinen Kreislauf damit notwendig verbunden wäre. Bei tieferem morphologischen Zerfall kann aber von einem solchen Mechanismus keine Rede mehr sein. Die Temperatur von 60° C zerstört die Zellstruktur. Es kommt zur Auflösung von Eiweißsubstanz und nicht nur zu rein örtlichen, sondern ebenso zu Fernwirkungen durch Eiweißzerfallsprodukte, z. B. die Adenosinverbindungen. Es ist bemerkenswert, daß uns Änderungen in der Blutzusammensetzung, die wir zur Kontrolle mituntersuchten, nicht besonders aufgefallen sind, während in zahlreichen Arbeiten dem Plasmaverlust und der Bluteindickung die Hauptrolle bei der Genese des Kollapses zugesprochen werden (PONSOLD, GÜNTHER, TRUSLER, EGBERT, WILLIAMS, GREUER [32–34]). Wir haben zwar immer eine ödematöse Durchtränkung der Kutis und Subkutis im bestrahlten Bezirk gesehen, nie aber so hochgradig ausgebildete Ödeme, daß damit eine wesentliche Verminderung des in der Blutbahn kreisenden Plasmas verbunden gewesen wäre. LEACH, PETERS und ROSSITER [29] konnten in der schon mehrfach angeführten Arbeit nachweisen, daß sich eine Ödembildung bei einer Hitzeeinwirkung von 55° C nicht findet, während sich bei der Einwirkung von 60° C im Verlauf von 3 Stunden eine lokale Zunahme des Gewebswassers um fast 100% feststellen läßt. Es sei unbestritten, daß im weiteren Verlauf eines Verbrennungsschadens der Kollaps durch Plasmaverlust die führende Rolle spielt. Für akute Fälle hat er jedoch keine Bedeutung.

Die Therapie richtet sich gegen die Symptome, die in den nacheinander ablaufenden Phasen sehr different sind. In der ersten Phase, im sog. primären Schock, wird Morphin das Mittel der Wahl sein. Im zweiten Stadium steht der Ersatz des verloren gegangenen Plasmas im Vordergrund. BLACK [36] gibt Plasma oder Serum nach bestimmten Dosierungsschemen und auch HARKINS und COPE [38] schlagen Blut- oder Plasmatransfusionen vor, während sich Kochsalz- und Dextroseinjektionen nicht bewährt haben. Von chirurgischer Seite wird auch heute die Tanninherapie noch empfohlen, und die Mortalitätsziffer scheint für sie zu sprechen [38]. Aber auch die einfache Wicklung der verbrannten Körperteile vermag den Plasmaaustritt zu hindern. Ob in der Tat die Tanninherapie die Resorption toxischer Stoffe verhindert, erscheint zumindest zweifelhaft, da aus dem völlig koagulierten Gebiet ohnehin keine Resorption stattfindet, die weniger geschädigten Randgebiete also die Abgabe von Eiweißzerfallsstoffen bewirken müssen. Die Nebennierenrindentherapie, die von EINHAUSER [37] noch sehr empfohlen wird, hat nach neueren Arbeiten nicht gehalten, was sie versprochen hat, obwohl experimentelle Befunde in der Tat für eine besondere Beteiligung der Nebenniere bei Verbrennungsschäden sprechen (MIYAGO und LOWDON und Mitarbeiter [39, 40]).

Zusammenfassung.

Es wird das Blut von Katzen und Schweinen vor und nach Verbrennung am Meerschweinchen-Dünndarm hinsichtlich seiner Wirksamkeit auf den Darmtonus geprüft.

Der Tonus nimmt nach Verbrennung entweder ab oder zumindest nicht so stark zu wie nach Zugabe von Normalblut.

Erklärt wird dieser Effekt mit dem Auftreten kreislaufwirksamer Eiweißverbindungen, wobei nicht dem Histamin, sondern den Adenosinverbindungen die wesentlichste Rolle zugesprochen wird.

Die makroskopisch sichtbaren, morphologischen Änderungen sprechen gleichfalls nicht für einen Histamineffekt.

Strahlende Hitze macht bemerkenswerte Tiefenwirkungen mit Eiweißkoagulation oberflächlich liegender Organe, auch in Bauch- und Brusthöhle.

Literatur.

[1] Ackermann, D. u. Fr. Kutscher: Z. Biol. **54**, 387 (1910). — [2] Bartosch, B., W. Feldberg u. E. Nagel: Pflügers Arch. **230**, 129 (1932); **231**, 616 (1933). — [3] Holtz, P.: Klin. Wschr. **1937**, 1561. — [4] Ebbecke, U.: Pflügers Arch. **169**, 1 (1914). — [5] Barsoum, G. S. and S. H. Smirk: Clin. Sci. **2**, 353 (1936). — [6] Barsoum, G. S. and J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **85**, 409 (1935). — [7] Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **90**, 349 (1937). — [8] Ackermann, D. u. H. Mauer: Pflügers Arch. **247**, 459 (1943). — [9] Werle, E. u. H. Herrmann: Biochem. Z. **291**, 105 (1937). — [10] Dale, H. H.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1937**. — [11] Burchard, H.: Klin. Wschr. **1934**, 1073. — [12] Hildebrandt, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 148 (1940). — [13] Haas, H. T. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 161 (1940). — [14] Holtz, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 269 (1937). — [15] Eichler, O. u. H. Killian: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 606 (1931). — [16] Eichler, O. u. G. Speda: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 152 (1940). — [17] Werle, E. u. G. Effkemann: Klin. Wschr. **1940**, 1160. — [18] Werle, E. u. G. Effkemann: Klin. Wschr. **1940**, 717. — [19] Zipf, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 579 (1931). — [20] Rigler, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 54 (1932). — Handbuch der Pharmakologie, Bd. 7, S. 63. 1938. — [21] Embden, G.: Z. physiol. Chem. **167**, 137 (1927). — [22] Ewig, W.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.-forsch. **1938**, 148. — [23] Jürgensohn, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 739 (1931). — [24] Einhauser, M.: Klin. Wschr. **1938**, 127. — [25] Wense: Z. Immunit.forsch. **97**, 100 (1939). — [26] Bernhard-Kreis: Z. exper. Med. **104**, 756 (1939). — [27] Fleisch, A. u. R. Domenjoz: Klin. Wschr. **1940**, 984. — [28] Gropp, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 216 (1942). — [29] Leach, E. H., R. A. Peters and R. I. Rossiter: Quart. J. exper. Phsiol. **32**, 67 (1943). — [30] Zinck, K. H.: Klin. Wschr. **1940**, 78. — [31] Meessen, H.: Beitr. path. Anat. **109**, 352 (1944). — [32] Ponsold: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **35**, 75 (1941). — [33] Günther, G. W.: Arch. klin. Chir. **194**, 539 (1938). — [34] Trusler, H. M., H. L. Egbert and H. S. Williams: J. Amer. med. Assoc. **113**, 2207 (1939). — [35] Greuer, Wilh.: Z. exper. Med. **111**, 120 (1942). — [36] Black, D. A. K.: Brit. med. J. **4168**, 693 (1940). — [37] Einhauser, M.: Münch. med. Wschr. **1939 I**, 441. — [38] Thermal burns. U.S. Office of War-Inf. **1944**. — [39] Miyago, T.: Okayama Igakkai-Zasski **51**, 104; Ber. Physiol. **114**, 105. — [40] Lowdon: J. Physiol. (Brit.) **96**, 27 (1939). — [41] Lewis: The blood vessels of the human skin and their responses. London, 1927. [42] Ewig, W.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1938**, 148. — [43] Fujiwara, T.: Okayama Igakkai-Zasski **51**, 2040 (1939). — Ber. Physiol. **120**, 272.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn.

Über die Blutdruckwirksamkeit von Sympatol an Menschen nach Vorbehandlung mit Ephedrin, Veritol und Pervitin.

Von

Fritz Heim.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. August 1947.)

In einer früheren Arbeit[1] haben wir nachgewiesen, daß Adrenalin, Adrianol und Sympatol durch die von Blaschko, Richter und Schlossmann[2] vor allem in der Leber und Niere, doch auch in anderen Organen nachgewiesene Aminooxydase rasch zerstört und damit pharmakologisch unwirksam gemacht werden. Veritol, Ephedrin, Benzedrin und Pervitin dagegen, die sich von den genannten Körpern vor allem darin unterscheiden, daß ein H-Atom am endständigen C-Atom der Seitenkette durch eine CH_3-Gruppe ersetzt ist, sind für die Aminooxydase unangreifbar. Es werden nach Blaschko[3], Mann und Quastel[4], Beyer[5] und Hauschild[6] ganz allgemein Amine vom Typ R—CH_2—NH_2 leicht und Amine vom Typ R—$CHNH_2$—CH_3 vom Warmblüterorganismus schwer fermentativ abgebaut. Körper vom chemischen Aufbau des Veritol, Ephedrin und Pervitin hemmen, wie von Blaschko, Richter und Schlossmann[2] und uns[1] nachgewiesen werden konnte, die fermentative Zerstörung des Adrenalins und Sympatols, vermutlich indem sie mit den spezifischen Gruppen des Ferments eine schwer lösbare Verbindung eingehen, durch die das Ferment eine Blockierung erfährt. In niedrigsten Konzentrationen unter 1:1000000 beschleunigen Veritol, Ephedrin und Pervitin, wie wir[1] beobachten konnten, die fermentative Desaminierung und Oxydation des Adrenalins und Sympatols. Wie wir[1] bereits früher ausgeführt haben, dürfte somit der pharmakologischen Wirkung des Veritols, Ephedrins und Pervitins und analoger Körper ein grundsätzlich anderer Mechanismus zugrunde liegen wie der des Adrenalins, Sympatols und ähnlicher Körper. Letztere sind echte Sympathikusreizstoffe, während bei ersteren die Sympathikuswirkung indirekt über eine Beeinflussung der Geschwindigkeit des fermentativen Abbaues des körpereigenen Adrenalins bzw. des therapeutisch von außen zugeführten Adrenalins oder Sympatols zustande kommt. Es ist deshalb anzunehmen, daß in vivo die Vorbehandlung mit Veritol, Ephedrin oder Pervitin die Wirksamkeit von Adrenalin oder Sympatol erhöht.

Bei Durchsicht der Literatur findet man mehrere Hinweise darauf, daß die Wirksamkeit des Adrenalins durch Körper der Ephedrin-, Veritol- und Pervitinreihe gesteigert wird. Csepai und Doleschall [7] beobachteten an einigen Patienten, daß die blutdrucksteigernde Wirkung von Adrenalin nach Vorbehandlung mit Ephedrin zugenommen hatte. Diese Beobachtung am Menschen konnte von Schaumann [8] durch Blutdruckversuche an Hunden und Kaninchen bestätigt werden. Jang [9] fand neben einer Verstärkung der Adrenalinwirkung durch niedrige, eine Abschwächung derselben durch hohe Ephedrindosen. Ebenso stellte Graham [10] durch eingehende Untersuchungen an isolierten Organen und am Ganztier fest, daß Ephedrin nur in niedrigen Konzentrationen die Adrenalinwirkung steigert, während sie durch Konzentrationen über 10^{-6} abgeschwächt und über 10^{-3} aufgehoben wird. Nach Gaddum und Kwiatkowski [11] übt Ephedrin in Konzentrationen, die selbst noch ohne Wirkung auf die Gefäße des durchströmten Kaninchenohres sind, eine verstärkende Wirkung auf Adrenalin aus. Zur Erklärung dieser Wirkung ziehen die Autoren die Beobachtungen von Blaschko, Richter und Schlossmann [2] über die die Aminooxydase hemmende Wirkung des Ephedrins heran. Auch Veritol soll nach den Angaben von Kwiatkowski [12] an den Gefäßen des perfundierten Kaninchenohres in selbst unwirksamen Dosen die Wirkung kleiner Adrenalinmengen bzw. den Effekt eben wirksamer Sympathikusreizungen erheblich verstärken. Die gleiche Feststellung wurde an der Nickhaut der Katze gemacht. Nach Kwiatkowski wird auch beim Menschen die blutdrucksteigernde Adrenalinwirkung durch vorherige Veritolgaben verstärkt. Nach Dautrebande, Philippot und Charlier [13] und Halpern [14] bewirkt Benzedrin am Hund eine Wirkungsverstärkung für Adrenalin. An der dekapitierten Katze beobachtete Orzechowski [15], daß Ephedrin, Veritol, Benzedrin und Pervitin den Kreislauf für Adrenalin sensibilisieren.

In vorliegenden Untersuchungen wurde an einer größeren Zahl kreislaufgesunder Versuchspersonen im Alter von 18—35 Jahren der Einfluß therapeutischer Dosen von Ephedrin, Veritol und Pervitin auf die Sympatolwirkung am Kreislauf untersucht. Es sollte durch diese Untersuchungen festgestellt werden, ob die oben mitgeteilten Beobachtungen über die Verstärkung der Adrenalinwirkung durch Ephedrin, Veritol und Pervitin auch für das Sympatol Gültigkeit haben und ob überhaupt dieser Potenzierungseffekt am Menschen ebenso wie am Tier in Erscheinung tritt. Des weiteren glaubten wir, durch unsere Untersuchungen einen praktischen Beitrag liefern zu können zu der Frage, ob durch kombinierte Anwendung von Adrenalin oder Sympatol mit Ephedrin, Veritol oder Pervitin auch am Menschen Wirkungspotenzierungen zu erreichen sind. Und nicht zuletzt sollte festgestellt werden, inwieweit die gewonnenen Versuchsergebnisse eine Übertragung der einleitend entwickelten Vorstellung von dem Wirkungsmechanismus der Amine vom Typ des Ephedrins, Veritols und Pervitins auf die Vorgänge in vivo, speziell beim Menschen zulassen.

Methodik. Es wurde in 61 Einzelversuchen an kreislaufgesunden Versuchspersonen nach mehrmaliger Bestimmung des arteriellen Ruhedruckes die Wirkung einer intravenösen Injektion von 18 bzw. 36 mg Sympatol auf den systolischen Blutdruck für eine Dauer von 10 bzw. 20 Min. verfolgt. Die 18 bzw. 36 mg

Sympatol waren in 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Injektionsdauer betrug 30 Sek. Der Blutdruck wurde unmittelbar nach der Injektion im Abstand von 30 Sek. und dann von Minute zu Minute nach der Methode von Riva-Rocci gemessen. Es wurden 3 Versuchsreihen durchgeführt.

1. Versuchsreihe: 1 Stunde nach Ausführung des eben beschriebenen Sympatoltestes mit 36 mg Sympatol intravenös erhielten die Versuchspersonen 50 mg Ephedrin. hydrochloric. intravenös. 30 Min. nach der Ephedrininjektion wurde der Sympatoltest in genau der gleichen Weise durchgeführt, indem nach Bestimmung des systolischen Ruhewertes des arteriellen Druckes den Versuchspersonen wiederum 36 mg Sympatol injiziert und — wie vorher — dessen druckändernde Wirkung messend verfolgt wurde.

In einer 2. Versuchsreihe wurde der Einfluß von 20 mg Veritol intravenös auf den nachfolgenden Sympatoltest in genau der gleichen Weise untersucht wie in der 2. Versuchsreihe.

In der 3. Versuchsreihe, die bereits 1943 durchgeführt wurde und zeitlich gesehen 3 Jahre vor der mit Ephedrin und Veritol lag, wurde der Sympatoltest mit nur 18 mg Sympatol intravenös ausgeführt. Das in dieser Versuchsreihe untersuchte Pervitin wurde in einer Dosis von 15 mg intramuskulär injiziert. Wieder 30 Min. nach der intramuskulären Pervitininjektion wurde dessen Einfluß auf die Kreislaufwirksamkeit von 18 mg Sympatol intravenös bestimmt.

Um ein exaktes Maß für die drucksteigernde bzw. reaktive drucksenkende Wirkung des Sympatols zu haben, haben wir in jedem Versuch die Ergebnisse graphisch dargestellt, indem auf der Abszisse eines Ordinatensystems die Zeit und auf der Ordinate die Druckänderung aufgetragen wurde. Dabei entsprach 1 Min. 10 mm, und 1 mm Hg systolischer Druck 1 mm. Das daraus errechnete Flächenintegral, also das Produkt von Zeit in Minuten und systolischem Druck in mm Hg stellt ein quantitatives Maß der effektiven Sympatolwirkung auf den systolischen Druck dar. In den Abbildungen der Arbeit wurden aus Gründen der besseren Darstellung andere Maßstäbe gewählt.

Versuche. Injiziert man einer Versuchsperson eine mittlere Dosis Sympatol intravenös, so beobachtet man einen raschen Anstieg des Blutdruckes, der bereits 1 Min. nach der Injektion seinen höchsten Wert erreicht und in den darauf folgenden Minuten wieder auf den Ausgangswert herabsinkt. An diese erste Phase der drucksteigernden Wirkung schließt sich fast immer eine gegenregulatorische Periode der Senkung unter den Ausgangsdruck an, deren Ausmaß und Dauer, ebenso wie die der drucksteigernden Wirkung, in hohem Maße individuellen Schwankungen unterworfen ist.

Versuchsreihe 1*. Es seien die Ergebnisse von 15 Einzelbeobachtungen mitgeteilt, bei denen vor und 30 Min. nach der intravenösen Injektion von 50 mg Ephedrin die Wirkung von 36 mg Sympatol intravenös auf den systolischen Druck bestimmt wurde. Unter Verzicht einer Mitteilung der Ergebnisse der Einzelversuche seien in Tabelle 1 die wichtigsten Daten der errechneten Mittelwerte aus den 15 Einzelbeobachtungen mitgeteilt, die in Abb. 1 graphisch zur Darstellung gebracht wurden. Aus Abb. 1 geht hervor, daß der Ruhewert des systolischen

* Unter Mitarbeit von Herrn cand. med. Schröter.

Druckes 30 Min. nach 50 mg Ephedrin intravenös 7,2% über dem Normalwert liegt. Sämtliche 15 Versuchspersonen reagierten auf die Ephedrininjektion mit einer Erhöhung des systolischen Druckes. Das Flächenintegral der drucksteigernden Wirkung von 36 mg Sympatol, das vor der Ephedrininjektion im Mittel 814 qmm betrug, erhöhte sich auf 1404, d. h. um 63,6%. Das Flächenintegral der reaktiven drucksenkenden Wirkung des Sympatols nahm nach Ephedrin um 32,7% zu. Während in den Vorversuchen nach 36 mg Sympatol im Maximum eine Drucksteigerung um 24,8% der Ausgangshöhe des arteriellen Druckes beobachtet wurde, beträgt nach Ephedrin der Höchstwert der Druckzunahme in Prozenten des Ausgangswertes 32,5%. Die Dauer der drucksteigernden Wirkung des Sympatols ist nach Ephedrin nur um den geringen Betrag von 8% erhöht.

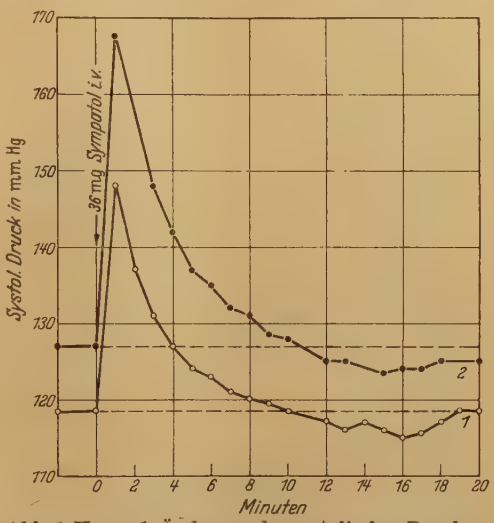


Abb. 1. Kurve *1*: Änderung des systolischen Druckes durch intravenöse Injektion von 36 mg Sympatol. Kurve *2*: Das gleiche 30 Min. nach 50 mg Ephedrin. hydrochloric. intravenös. Mittelwerte aus 15 Einzelversuchen.

Versuchsreihe 2*. In der eben beschriebenen Weise wurden 15 Einzelversuche ausgewertet, bei denen statt 50 mg Ephedrin 20 mg Veritol intravenös gegeben wurden. Auch in dieser Versuchsreihe trat bei sämtlichen Versuchspersonen nach der Veritolinjektion eine Erhöhung des systolischen Druckes ein, die 30 Min. nach der Injektion im Mittel 6,8% über

Tabelle 1. *Versuchsreihe 1. Mittelwerte aus 15 Einzelversuchen.*

	Vor	30 Min. nach 50 mg Ephedrin intravenös	Zunahme in %
Flächenintegrale der drucksteigernden Wirkung von 36 mg Sympatol intravenös . .	858	1404	63,6
Flächenintegrale der reaktiven drucksenkenden Wirkung	168	223	32,7
Höchstwert der Zunahme des systolischen Druckes in Prozenten des Ausgangswertes	24,8	32,5	31

* Unter Mitarbeit von Herrn cand. med. Schröter.

den Ruhewerten lag. Durch die Vorbehandlung mit Veritol nahm die drucksteigernde Wirkung des Sympatols um 66,8% zu. Auch die übrigen Veränderungen nach Veritol bewegen sich in den Größenordnungen, wie wir sie nach der Vorbehandlung mit Ephedrin beobachten konnten. In Abb. 2 ist die Wirkung von 36 mg Sympatol vor und 30 Min. nach intravenöser Injektion von 20 mg Veritol graphisch zur Darstellung gebracht worden.

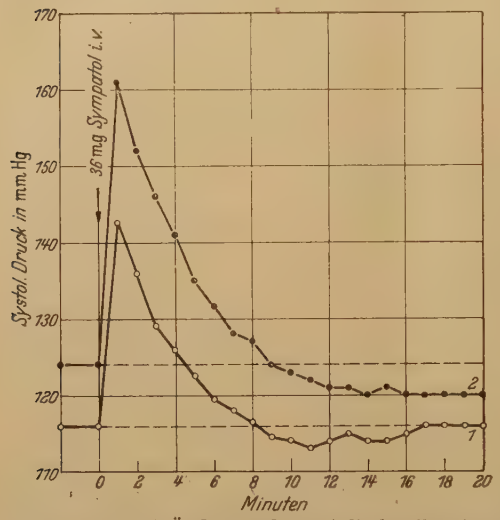


Abb. 2. Kurve *1*: Änderung des systolischen Druckes durch intravenöse Injektion von 36 mg Sympatol. Kurve *2*: Das gleiche 30 Min. nach 20 mg Veritol intravenös. Mittelwerte aus 15 Einzelversuchen.

Versuchsreihe 3. Sie wurde, wie erwähnt, unter Verwendung von nur 18 mg Sympatol an 25 Versuchspersonen durchgeführt. Die zahlenmäßigen Ergebnisse dieser Reihe sind deshalb nicht ohne weiteres mit denen der Versuchsreihe 1 und 2 zu vergleichen. Wie aus der Abb. 3 zu entnehmen ist, wird der systolische Druck durch 15 mg Pervitin intramuskulär im Mittel um 7%, d. h. um die gleiche Größenordnung erhöht, wie durch 50 mg Ephedrin bzw. 20 mg Veritol. Das Flächenintegral von 18 mg Sympatol beträgt im Mittel 504 qmm gegenüber dem von 36 mg Sympatol, das sich im Mittel aus 30 Versuchen mit 836 qmm errechnete. Wie aus Tabelle 3 und Abb. 3 hervorgeht, wird die blutdrucksteigernde Wirkung des Sympatols durch Pervitin wesentlich mehr gesteigert als durch Ephedrin und Veritol, und zwar im Mittel um 132%. Ein Absinken des Blutdruckes unter den Ausgangswert wird

Tabelle 2. *Versuchsreihe 2. Mittelwerte aus 15 Einzelversuchen.*

	Vor	30 Min. nach 20 mg Veritol intravenös	Zunahme in %
Flächenintegrale der drucksteigernden Wirkung von 36 mg Sympatol intravenös . .	814	1358	66,8
Flächenintregale der reaktiven drucksenkenden Wirkung	159	336	111
Höchstwert der Zunahme des systolischen Druckes in Prozenten des Ausgangswertes	22,5	30,2	34,2

nach Vorbehandlung mit Pervitin kaum beobachtet. Wie aus der Abbildung weiter hervorgeht, ist die Wirkungsdauer des Sympatols nach Pervitinvorbehandlung erheblich verlängert und zwar um 67%. Wenn man versucht, sich eine quantitative Vorstellung zu machen, von dem durch 15 mg Pervitin erzielten Potenzierungseffekt für Sympatol, so kann man folgende Zahlen zugrunde legen. Die blutdrucksteigernde Wirkung von 18 mg Sympatol betrug im Mittel aus 25 Einzelversuchen 504 qmm, die der doppelten Sympatolmenge im Mittel aus 30 Einzelversuchen 836 qmm. Das bedeutet, daß eine Verdoppelung der Sympatolmenge mit einer Wirkungssteigerung von 65% einhergeht. Da das Flächenintegral der drucksteigernden Wirkung von 18 mg Sympatol nach Pervitinvorbehandlung um 132% anstieg, so ist zur Erzielung dieser Wirkung an der unvorbehandelten Versuchsperson etwa die 3fache Sympatolmenge notwendig.

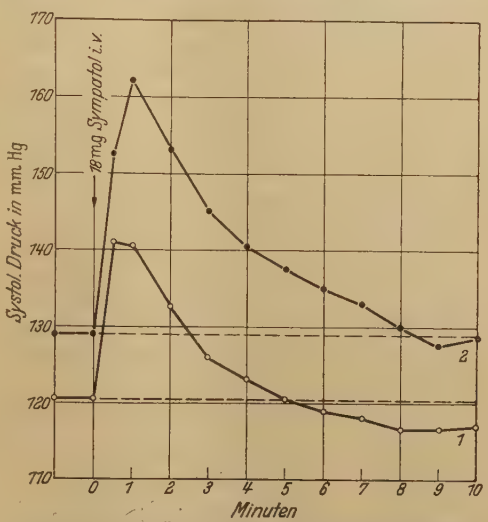


Abb. 3. Kurve *1*: Änderung des systolischen Druckes durch intravenöse Injektion von 18 mg Sympatol. Kurve *2*: Das gleiche 30 Min. nach 15 mg Pervitin intramuskulär. Mittelwerte aus 25 Einzelversuchen.

Es seien schließlich noch 6 Einzelversuche angeführt, bei denen nach Vorbehandlung mit Ephedrin bzw. Veritol bzw. Pervitin das Flächenintegral der drucksteigernden Wirkung von Sympatol nicht größer, sondern im Gegenteil gegenüber dem Vorversuch kleiner geworden war. Es befinden sich darunter drei Versuchspersonen, die Ephedrin, eine, die Veritol und zwei, die Pervitin erhalten hatten. Auffallenderweise führte die Ephedrin- bzw. Veritolinjektion bei diesen 4 Versuchspersonen nicht

Tabelle 3. *Versuchsreihe 3. Mittelwerte aus 25 Einzelversuchen.*

	Vor	30 Min. nach 15 mg Pervitin intramuskulär	Zunahme in %
Flächenintegrale der drucksteigernden Wirkung von 18 mg Sympatol intravenös . .	504	1169	132
Flächenintegrale der reaktiven drucksenkenden Wirkung	100	30	—60
Höchstwert der Zunahme des systolischen Druckes in Prozenten des Ausgangswertes	17,1	25,5	49

zu einer Blutdrucksteigerung, sondern der arterielle Druck war 30 Min. nach der Injektion in einem Falle unbeeinflußt geblieben und in den drei anderen Fällen sogar einige Millimeter Hg unter die Ausgangshöhe abgesunken. Dies war bei den zwei mit Pervitin behandelten Versuchspersonen nicht der Fall.

Besprechung. Die mitgeteilten Untersuchungen am Menschen über den Einfluß von Ephedrin, Veritol und Pervitin auf die Blutdruckwirkung des Sympatols haben ergeben, daß 30 Min. nach intravenöser Injektion von 50 mg Ephedrin, 20 mg Veritol und intramuskulärer Injektion von 15 mg Pervitin die Höhe des arteriellen Druckes um wenige Prozent zugenommen hat. Diese relativ geringfügige dynamische Wirkung der genannten Arzneimittel ist vergesellschaftet mit einer recht beachtlichen statischen Wirkung, die allerdings erst dann in Erscheinung tritt, wenn man vor und nach Vorbehandlung mit diesen Körpern die Kreislaufwirkung eines Sympathikusreizstoffes, wie z. B. des Sympatols untersucht. Dann findet man, daß Ephedrin, Veritol und vor allem Pervitin die blutdrucksteigernde Wirkung einer gleichbleibenden mittleren Dosis von Sympatol erheblich verstärken und speziell Pervitin auch die Wirkungsdauer verlängert.

Die neueren Befunde von Blaschko, Richter und Schlossmann[2] und Heim[1] über den fermentativen Abbau des Adrenalins und die Hemmung des Adrenalins bzw. Sympatols zerstörenden Aminooxydaseferments durch Substanzen vom Charakter des Ephedrins, Veritols und Pervitins geben uns die Möglichkeit einer Erklärung unserer Befunde. Es ist äußerst wahrscheinlich, daß die Aminooxydaseaktivität im Organismus durch Ephedrin, Veritol und Pervitin herabgesetzt wird, so daß das anschließend gegebene Sympatol eine verminderte fermentative Inaktivierung erfährt. Wenn wir nach Ephedrin und Veritol in erster Linie eine Zunahme der Wirkungsintensität und nur eine geringe Zunahme der Wirkungsdauer beobachten, so könnte dieser Befund im Widerspruch zu der eben gegebenen Erklärung stehen. Doch ist dabei zu berücksichtigen, daß auch die Zunahme der Wirkungsintensität auf einer verminderten Zerstörung der Substanz beruhen wird. Für die Erklärung der nach Ephedrin bzw. Veritol nur wenig verlängerten absoluten Wirkungsdauer ist von Bedeutung, daß nicht nur die blutdrucksteigernde Wirkung des Sympatols nach Ephedrin bzw. Veritol, sondern auch die reaktive Blutdrucksenkung zugenommen hat. Diese Tatsache weist schon darauf hin, daß die verstärkte blutdrucksteigernde Wirkung eine entsprechende Zunahme der gegenregulatorischen vagotonen blutdrucksenkenden Mechanismen zur Folge hatte. In dieser nun verstärkt einsetzenden gegenregulatorischen Vagotonie werden wir die Hauptursache dafür zu suchen haben, daß nach Ephedrin- und Veritolvorbehandlung

die Dauer der blutdrucksteigernden Wirkung des Sympatols nicht wesentlich verlängert ist.

Die Reaktionsweise der sechs Versuchspersonen, bei denen die Ephedrin-, Veritol- und Pervitinvorbehandlung eine umgekehrte Wirkung entfaltete, spricht dafür, daß die genannten Mittel bei diesen Versuchspersonen eine verstärkte vagotone Reaktionslage erzeugten. Es ist anzunehmen, daß bei diesem Reaktionstyp durch die Zufuhr von Ephedrin, Veritol und Pervitin zwar primär eine Sympathikotonie durch Hemmung der fermentativen Zerstörung des körpereigenen Adrenalins erzeugt wird, die jedoch bald durch eine einsetzende starke gegenregulatorische Vagotonie überkompensiert wird, so daß wir bereits 30 Min. nach der Darreichung dieser Mittel den üblichen blutdrucksteigernden Effekt vermissen. Injiziert man nun in dieser Phase der verstärkten Vagotonie Sympatol, so setzt auf diesen pharmakologisch erzeugten Sympathikusreiz sofort wieder eine verstärkte gegenregulatorische Vagotonie ein, die die blutdrucksteigernde Sympatolwirkung nicht voll zur Auswirkung kommen läßt. Eine andere Erklärungsweise könnte von unseren Befunden ausgehen, daß Ephedrin, Veritol und Pervitin in kleinsten Konzentrationen die Aminooxydase zu aktivieren vermögen. Es wäre immerhin möglich, daß bei den in ihrer Reaktionsweise von der Norm abweichenden Versuchspersonen in Gegenwart von Ephedrin, Veritol und Pervitin ein beschleunigter Abbau des zugeführten Sympatols stattfindet. Die Beobachtungen von Jang[9], Graham[10], Gaddum und Kwiatkowski[11], Kwiatkoswki[12] und Orzechowski[15], die sich dahin zusammenfassen lassen, daß die Körper der Ephedrin-, Veritol- und Pervitinreihe nur in niedrigen Konzentrationen die Adrenalinwirkung verstärken, sie in mittleren herabsetzen und in hohen Konzentrationen aufheben können, steht in einem gewissen Widerspruch zu der Annahme, daß die Verstärkung der Adrenalinwirkung durch Ephedrin und ähnliche Körper in vivo einfach nur auf einer Hemmung des fermentativen Abbaues des Adrenalins beruht. Denn der hemmende Einfluß des Ephedrins, Veritols und Pervitins auf die Aminooxydase nimmt gerade, wie auch wir[1] beobachten konnten, mit der Erhöhung der Konzentration dieser Stoffe zu. Bei Anwendung niedrigster Konzentrationen fehlt er entweder ganz oder die Aminooxydase erfährt sogar eine Wirkungssteigerung. Wir möchten daher annehmen, daß bei Anwendung kleiner Ephedrin- oder Pervitinmengen die Aminooxydase im wesentlichen nur außerhalb der Erfolgszellen, d. h. der Zellen, auf die das Adrenalin als Reiz wirkt, gehemmt wird, und so das Adrenalin einen Schutz vor vorzeitiger Zerstörung erfährt. Denn aus seiner Stabilisierung am Bildungsort, auf den Transportwegen oder in unspezifischen Gewebselementen resultiert eine Wirkungssteigerung an den

reizempfindlichen Erfolgszellen. Bei Anwendung höherer Ephedrin-, Veritol- und Pervitinkonzentrationen dagegen, die die Adrenalinwirkung herabsetzen oder ganz aufheben sollen, wird man auch eine Hemmung des Adrenalinabbaues in den reizempfindlichen Erfolgszellen annehmen müssen. Vielleicht ist dann deshalb die Wirksamkeit herabgesetzt, weil nicht das intakte Molekül, sondern ein bei dem intrazellulären, fermentativen Abbau des Adrenalins entstehendes Zwischenprodukt den eigentlichen hormonalen bzw. sympathiko-nervösen Reizstoff darstellt. So wird für die Stoffwechselwirkung des Adrenalins nicht dieses selbst, sondern das bei dessen Oxydation entstehende Adrenochrom verantwortlich gemacht. Wir möchten annehmen, daß jedenfalls zum Teil die Wirkungssteigerung kleinster Ephedrin-, Veritol- und Pervitindosen auf einer Hemmung des Fermentanteils außerhalb der Erfolgszellen beruht, daß der Grund für die Abnahme der Adrenalinwirkung bei Anwendung größerer Ephedrin-, Veritol- und Pervitinmengen in einer hinzutretenden Fermenthemmung in der Erfolgszelle zu suchen ist.

Die praktische Bedeutung unserer Befunde dürfte darin zu suchen sein, daß neben dem primären kreislauftonisierenden Effekt von Veritol, Ephedrin und Pervitin die statischen Wirkungen dieser Substanzen dadurch praktisch nutzbar gemacht werden können, daß man nach Vorbehandlung mit diesen Stoffen, deren Wirkung mehrere Stunden andauert, Sympathikusreizstoffe vom Typ des Adrenalins und Sympatols zur Anwendung bringt. Denn, wie wir zeigen konnten, wird deren Wirkung in Anwesenheit von Ephedrin, Veritol und Pervitin zweifellos erheblich verstärkt. Allerdings wird man darauf achten müssen, daß dann, wenn diese Stoffe eine verstärkte gegenregulatorische Vagotonie auslösen, das dürfte in 10% der Fall sein, sie nicht die Sympatolwirkung am Kreislauf verstärken, sondern herabsetzen.

Zusammenfassung.

An 61 jungen kreislaufgesunden Versuchspersonen wurde der Einfluß von 50 mg Ephedrin intravenös, 20 mg Veritol intravenös und 15 mg Pervitin intramuskulär auf die Blutdruckwirksamkeit von 18 bzw. 36 mg Sympatol intravenös untersucht. Es ergab sich, daß durch die genannten Körper bei 90% der Versuchspersonen der Blutdruck eine Steigerung erfährt, die 30 Min. nach der Injektion der genannten Körper in obiger Dosierung im Mittel 7% beträgt. Die blutdrucksteigernde Wirkung von Sympatol wird durch 50 mg Ephedrin intravenös um 64%, 20 mg Veritol intravenös um 67% und 15 mg Pervitin intramuskulär um 132% erhöht. Die Wirkungsdauer des Sympatols ist nur nach Pervitinvorbehandlung wesentlich verlängert. Bei 6 der 61 untersuchten Versuchspersonen führte die Vorbehandlung mit Ephedrin, Veritol und Pervitin zu einer Abnahme der blutdrucksteigernden Wirkung von

Sympatol. Die Ursache der Sensibilisierung für Sympatol wird in der Eigenschaft der genannten Körper gesehen, die Aktivität der Aminooxydase zu hemmen. Es wird auf die Wirkungspotenzierung der kombinierten therapeutischen Verwendung von Ephedrin, Veritol und Pervitin mit Sympatol, Adrenalin oder ähnlichen Substanzen hingewiesen.

Literatur.

[1] Heim, F.: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 520 (1947). — [2] Blaschko, H., D. Richter u. H. Schlossmann: J. Physiol. (Brit.) **89**, 6 (1937); **90**, 1 (1937); **91**, 13 (1938). — [3] Blaschko, H.: J. Physiol. (Brit.) **93**, 7 (1938). — [4] Mann and Quastel: Nature (Brit.) **144**, 943 (1939). — [5] Beyer, K. I.: J. Pharmacol. (Am.) **71**, 151 (1941). — [6] Hauschild: Klin. Wschr. **1941**, 363. — [7] Czepai, F. u. K. Doleschall: Arch. exper. Path. (D.) **134**, 109 (1928). — [8] Schaumann, O.: Arch. exper. Path. (D.) **138**, 208 (1928). — [9] Jang, Ch.: J. Pharmacol. (Am.) **70**, 347 (1940). — [10] Graham, I. D. P. and M. R. Gurd: J. Pharmacol. (Am.) **72**, 48 (1941). — [11] Gaddum, I. H., and H. Kwiatkowski: J. Physiol. (Brit.) **94**, 87 (1938). — [12] Kwiatkowski, H., J. Pharmacol. (Brit.) **69**, 198 (1942). — [13] Dautrebande, L., E. Philippot u. R. Charlier: Arch. internat. Pharmacodynam. **62**, 179 (1939). — [14] Halpern, B. N.: J. Physiol. et Path. gén. **37**, 597 (1939). — [15] Orzechowski: Arch. exper. Path. (D.) **198**, 27 (1941).

Versuche über die Behandlung des Gasödems durch Einatmung von Sauerstoff.

Von

Dr. Karl Seelkopf und Dr. Robert von Werz.

(Eingegangen am 8. September 1947.)

I. Zur Theorie und Methodik der Sauerstoffbehandlung.

1. Grundgedanke der Sauerstoffbehandlung.

Seit Pasteur unterscheidet man bekanntlich zwischen aeroben und anaeroben Bakterien, wobei die Erreger des Gasödems zu den obligatorischen Anaerobiern gerechnet werden. Diese bis heute geltende Unterscheidung führte uns zu der banalen, aber unseres Wissens noch nie folgerichtig durchgeführten Überlegung, daß es theoretisch möglich sein müßte, die Entwicklung der Erreger des Gasödems durch *Erhöhung des Sauerstoffpartialdruckes im Gewebe* hintanzuhalten.

Von der Tatsache der Sauerstoffempfindlichkeit ausgehend hatte man zwar schon im ersten Weltkrieg neben der breiten Spaltung des infizienten Gewebes eine *äußerliche Bespülung der Wunden* mit gasförmigem O_2 und mit Oxydationsmitteln vorgenommen. Aber der ungleich rationellere Weg, den Partialdruck des O_2 im Körperinneren selbst durch pulmonale O_2-Zufuhr zu erhöhen, wurde zu therapeutischen Zwecken merkwürdigerweise nie beschritten.

Nur aus theoretischen Erwägungen wurde von dieser Möglichkeit schon einmal Gebrauch gemacht. Bezeichnenderweise war es ein Physiologe, von dem die Anregung ausging, den Einfluß des im Gewebe herrschenden O_2-Druckes auf das Angehen von Tetanussporen zu untersuchen. Hierbei zeigte sich die beachtliche Tatsache, daß Erhöhung des O_2-Druckes das Auskeimen der Sporen erschwert, Verminderung desselben es erleichtert (Campbell und Veils[1]). Bei diesen Versuchen waren zum ersten Male Änderungen des O_2-Druckes im Gewebe durch Erhöhung der Sauerstoffkonzentration in der Einatmungsluft herbeigeführt worden. Indessen fand dieses Vorgehen von seiten der Praxis keine Nachahmung, so daß auch die therapeutischen Konsequenzen aus der erwähnten Beobachtung ungenutzt blieben. Im Gegenteil fuhr man auch weiterhin fort, eine Sauerstoffbehandlung lediglich durch lokale Anwendung von sauerstoffabgebenden Lösungen (H_2O_2, Kaliumpermanganat usw.) zu versuchen.

2. Unwirksamkeit der Lokalbehandlung mit Oxydationsmitteln.

Gegen die Anwendung derartiger sauerstoffabspaltender Lösungen ist aber vom Standpunkt unserer heutigen Erkenntnis einzuwenden, daß

solche Lösungen bei Berührung mit dem Gewebe *naszierenden Sauerstoff* abgeben, der das Gewebeeiweiß schädigt und dadurch für eine unerwünschte Wirkung verbraucht wird. Der naszierende Sauerstoff teilt sonach in jeder möglichen Form seiner Anwendung den Nachteil aller aggressiven Desinfektionsmittel, nicht über die Oberfläche hinaus einzudringen, das Gewebe zu schädigen und so sekundär das Bakterienwachstum sogar zu begünstigen. Soweit es von der relativ kleinen Oberfläche aus überhaupt zu einer Resorption dieser Oxydationsmittel kommt, ist aber erst recht nicht Erhöhung des Sauerstoffdruckes im Gewebe, sondern allenfalls Methämoglobinbildung und anderes Unerwünschte die Folge.

Da die Grundbeobachtung PASTEURS die Tatsache beinhaltet, daß anaerobe Bakterien schon *durch den Luftsauerstoff* abgetötet werden, liegt es unseres Erachtens auf der Hand, auch zu therapeutischen Zwecken diesen (molekularen O_2) zu verwenden und nicht aktiven Sauerstoff, der nach dem Gesagten gar keine Aussicht hat, an die Erreger heranzukommen. Andererseits ist der molekulare Sauerstoff als physiologisches Gas für den Wirtsorganismus weitgehend unschädlich. Die schädlichen Partialdrucke liegen jedenfalls für diesen und für die Erreger so weit auseinander, daß der Sauerstoff, gemessen an diesem „Therapeutischen Index" geradezu als ideales Chemotherapeutikum erscheinen muß.

3. Einfluß der O_2-Atmung auf den O_2-Druck im Gewebe.

Versuche von CAMPBELL[2, 3] und BECKER-FREYSENG[4] über die Abhängigkeit der Sauerstoffspannung im Gewebe vom Partialdruck in der Einatmungsluft lassen erkennen, daß bei Steigerung des letzteren der O_2-Druck auch im Gewebe ansteigt. Einige Daten der genannten Autoren sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die dort angegebenen Werte wurden am Kaninchen mittels der gleichen Methode (Anlegung einer N_2-Blase im Gewebe und Analyse derselben nach HALDANE) ermittelt.

Tabelle 1. *O_2-Teildrucke in mm Hg im Gewebe bei Atmung von O_2-verschiedener Spannung.* (Nach CAMPBELL und BECKER-FREYSENG.)

Atemluft	Haut	Abdomen
152 (Luftatmung) . .	20—30	30—40
685 (90% O_2)	—	66
760 (100% O_2). . . .	60	100
2639 (3,5 at)	184	1021

4. Sauerstoffempfindlichkeit der Anaerobier.

Nach CHUDIAKOW[5], der unseres Wissens als einziger die für verschiedene Anaerobier kritischen O_2-Drucke exakt bestimmt hat, vermögen Bakterien aus der hier interessierenden Gruppe Sauerstoffdrucke bis 10 mm Hg für längere Zeit auszuhalten. Damit stimmt überein, daß

die überall vorhandenen Gasbranderreger nur unter besonderen Wundbedingungen, die mit einer Verminderung der normalen O_2-Versorgung einhergehen, zur Infektion führen. Es muß daher erstrebt werden, durch Erhöhung des Diffusionsgefälles einen Sauerstoffdruck im befallenen Gewebe von über 10 mm O_2 zu erzeugen. Die Zahlen der Tabelle 1 lassen nun erkennen, daß die Erreichung dieses Zieles nur eine Frage des angewandten O_2-Druckes ist.

5. Methodische Voraussetzungen zur Beurteilung der Sauerstofftherapie.

Um einen Effekt von Behandlungsversuchen objektiv beurteilen zu können, muß ein Infektionsmodus angestrebt werden, der möglichst in allen Fällen zum Tode der Versuchstiere führt. Gerade beim Gasbrand ist jedoch diese Forderung schwer zu erfüllen, da die Infektion selbst beim relativ empfindlichen Meerschweinchen durchaus nicht mit Sicherheit angeht. Die Beimpfung einzelner gequetschter Muskeln mit Gartenerde, wie sie z. B. SCHREUS [6] verwendet, kann, wie der Autor selbst zugibt, diesen Anspruch nicht erfüllen. Dementsprechend zeigten seine Tiere einen klinisch außerordentlich verschiedenen Verlauf der Infektion, angefangen vom „schnell" tötenden Gasbrand innerhalb 60 Stunden bis zur unkomplizierten Wundheilung. Um diesen Mißstand zu umgehen und sichere Grundlagen für die Beurteilung der O_2-Behandlung zu schaffen, arbeiteten wir einen Infektionsmodus aus, nach dem die Tiere in 100% einem rasch tödlichen Gasödem erliegen. Bevor wir auf seine Schilderung eingehen, muß noch eine weitere wichtige Frage besprochen werden.

6. Infektion mit Rein- oder Mischkulturen?

Unser Bestreben war es, die Versuche von vornherein so zu gestalten, daß sie den in der Praxis geltenden Verhältnissen möglichst nahe kamen, weshalb wir uns, ebenso wie SCHREUS, der Mischinfektion (Aerobier + Anaerobier) bedienten. Gegen die Verwendung von Gartenerde bzw. Mischkulturen ist zwar von DOMAGK [7] der Einwand der Unübersichtlichkeit erhoben worden. Dieser Einwand ist aber nur dort berechtigt, wo es sich um die Bestimmung der relativen Wirkungsstärke verschiedener Chemotherapeutika, z. B. von Sulfonamiden gegenüber bestimmten Gasbranderregern handelt. Handelt es sich aber, wie in unserem Fall, darum, die Wirksamkeit therapeutischer Maßnahmen unter *praktischen* Gesichtspunkten zu prüfen, so ist umgekehrt gerade die Verwendung der in der Wunde stets vorhandenen Mischfloren zu fordern. Die Verwendung von Reinkulturen würde zu allzu optimistischen Schlußfolgerungen verleiten, insofern, als auch nach unserer Erfahrung solche wesentlich schwerer angehen und dementsprechend viel leichter chemotherapeutisch zu beeinflussen sind, als die „natürliche" Infektion

mit gedüngter Erde. Angaben über die Wirksamkeit bestimmter Maßnahmen gegenüber der Infektion mit Reinkultur können deshalb ausschließlich systematisches Interesse beanspruchen.

7. Eigene Infektionstechnik.

0,5 ccm einer Gasödemmischkultur (gewonnen durch 8stündige Bebrütung von etwas Gartenerde in Leberbouillon unter Vakuum) wird mit 1,5 ccm des Blutersatzmittels „Periston" vermengt und zwischen Haut und Bauchmuskulatur von Meerschweinchen injiziert, so daß eine breite, flache Quaddel entsteht. Je 100 g Tier wurden 0,8 ccm dieser Mischung verwendet. Auf diese Weise erzielten wir in *100% einen tödlichen Ausgang*, wobei der Tod unter Kollapstemperatur in der Mehrzahl der Fälle zwischen der 10. und 20. Stunde eintrat.

8. Verlauf der Infektion bei unbehandelten Tieren.

Gewöhnlich zeigten die Tiere als erstes Symptom Schmerzempfindlichkeit der Bauchgegend, die einherging mit fortschreitender Volumzunahme des Blaseninhalts. Bereits nach einigen Stunden machte sich der für die Gasbrandinfektion charakteristische süßlich-fötide Geruch bemerkbar. Bei der Autopsie sehen die Bauchmuskeln wie gekocht aus und zeigen dementsprechend die von Bieling und Nordmann[8] ausführlich beschriebene Verfärbung. In den Organen einiger eingegangener Tiere, die vor der Zerstörung des Hygienischen Instituts München (Geheimrat Prof. Kisskalt) dort bakteriologisch untersucht worden waren, fanden sich kulturell massenhaft Gasödemerreger (Welch-Fränkel und Novy) neben reichlichen Kolibazillen.

9. Methodik der Sauerstoffbehandlung.

Die Sauerstoffbehandlung selbst erfolgt in einem Druckkessel von etwa 30 Liter Inhalt. Das Druckgefäß wurde nach Ausspülen der Luftreste mittels Reduzierventils binnen 10 Min. auf den gewählten Druck eingestellt. Die Atmungskohlensäure wurde durch Natronkalk absorbiert. Dementsprechend betrug die relative Feuchtigkeit 40—50%. Während der Versuche wurde stets für Aufrechterhaltung einer Temperatur von 20—21° C im Gefäß gesorgt. Das Verhalten der Tiere konnte durch ein Fenster beobachtet werden. Beim Ausschleußen wurde, um Caisson-Erscheinungen zu vermeiden, sehr langsam entlastet. Es wurde stets die Zeit von 30 Min. eingehalten.

Um dem Sauerstoff möglichst optimale Wirkungsbedingungen zu geben, ließen wir die O_2-Behandlung sogleich nach der Infektion beginnen. Gleichzeitig mit dieser erhielten die Tiere je 0,2 ccm Tetanusantitoxin intramuskulär.

II. Behandlungsergebnisse.

1. Versuche mit Überdrucksauerstoff.

Wir begannen, um möglichst schnell zu einem klaren Ergebnis zu kommen, unsere ersten Versuche mit einem O_2-Druck von 3,5 at, d. i. die beim Meerschweinchen für 1—2 Stunden noch eben tolierte Grenze.

In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse solcher Behandlungsversuche dargestellt. Sie zeigt, gemessen an den Überlebenszeiten, daß *eine sofort nach der Infektion beginnende O_2-Überdruckbehandlung von 2 bis 3 Stunden keinen Einfluß der Behandlung gegenüber den Kontrolltieren erkennen läßt.* Soweit die geringe Zahl der Versuche einen solchen Rückschluß gestattet, scheint sich die Sauerstoffbehandlung in dieser Form eher schädlich auszuwirken. Als Erklärung dafür ergab sich uns später, daß Sauerstoffdrucke, die normalerweise gerade noch unschädlich sind, auf die durch die Infektion geschädigten Tiere während der gleichen Zeit bereits toxisch wirken.

Tabelle 2. *Überlebenszeiten gasbrandinfizierter Meerschweinchen mit und ohne Sauerstoffbehandlung (3,5 at.)*

Versuch Nr.	Unbehandelt Stunden	Behandelt Stunden	Behandlungsdauer
1	10	24	2 Stunden
	12	10	
2	21	24	
	15	18	
3	28	10	3 Stunden
	24	18	
	13	18	
	18	18	
4	21	12	
	19	14	
Mittel:	18	16,4	

Dieses negative Ergebnis einer energischen Erhöhung des O_2-Druckes im Körper ist nun nicht ohne weiteres verständlich. Es spräche nur dann gegen die Richtigkeit unserer Überlegungen, wenn sicher wäre, daß am Infektionsort wirklich ein erhöhter O_2-Druck bestanden hat, ohne die Erreger abzutöten. Solange dies jedoch nicht feststeht, könnte man sich denken, daß das Fehlschlagen der O_2-Behandlung besondere Ursachen hat. Als solche kommen für ein Versagen der O_2-Behandlung folgende Möglichkeiten in Frage:

2. Gründe für das Versagen der Behandlung mit O_2-Überdruck.

a) Es wäre denkbar, daß der O_2-Druck nur im durchbluteten Gewebe selbst erhöht ist, nicht aber in der angelegten Quaddel. In diesem Fall bestünde vermutlich auch beim Menschen wenig Ansicht, den O_2-Druck in den befallenen, nekrotischen Gewebspartien ausreichend zu erhöhen.

b) Es wäre denkbar, daß die mit der Bouillon injizierten Toxine den Tod herbeiführen, auch wenn die O_2-Behandlung die lebenden Erreger abzutöten vermag.

c) Es wäre möglich, daß die dem erhöhten O_2-Druck ausgesetzten Erreger Sporen bilden, die als widerstandsfähige Dauerformen die O_2-Behandlung überstehen, um nach deren Beendigung auszukeimen.

ad a) Um Punkt a) zu erklären, bestimmten wir den in der Quaddel herrschenden O_2-Druck nach $1^1/_2$ Stunden O_2-Behandlung mit 1 at. Zu diesem Zweck entnahmen wir durch Punktion 5 ccm Blaseninhalt, in welchem der O_2-Druck manometrisch bestimmt wurde. Hierbei fanden wir bei 3 Tieren O_2-Drucke von 40, 43 und 46 mm Hg, während zum Vergleich angestellte Versuche mit sterilem Quaddelinhalt bei Luftatmung in Übereinstimmung mit den Angaben von Campbell O_2-Drucke von 20 bis 30 mm Hg ergeben hatten. Danach besteht also kein Zweifel, daß schon durch Erhöhung des Sauerstoffpartialdruckes in der Lunge auf 760 mm eine Steigerung des O_2-Druckes auch am Infektionsort zustandekommt. Bestehen die von Chudiakow für die Sauerstoffempfindlichkeit der Gasbranderreger angegebenen Werte zu Recht (s. oben), *so müßte also der Sauerstoffdruck bei 3,5 at erst recht ausreichend sein, um die Erreger schon in kurzer Zeit abzutöten.* (Auf die direkte Bestimmung des Gewebsdruckes bei 3,5 at verzichteten wir bewußt im Hinblick auf das Entweichen des unter Druck gelösten O_2.)

ad b) Andere Versuche galten der Frage, ob die in der Bouillon vorgebildeten Toxine die Wirkung der O_2-Behandlung zunichte machen, auch wenn durch diese die Erreger selbst abgetötet werden. Diese Vermutung ließ sich indessen ebenfalls auf einfache Weise entkräften, soferne sich zeigte, daß die beim angegebenen Infektionsmodus stets tödliche Bouillon wirkungslos war, wenn sie durch Zentrifugieren von der Hauptmenge der Bakterien befreit und den Tieren intraperitoneal oder intravenös injiziert wurde. Zur Verhinderung einer aeroben Infektion hatten die Tiere in diesen Versuchen prophylaktisch 66 mg Globuzid intramuskulär erhalten. Auch die doppelte und dreifache Bouillonmenge zeitigte bei dieser Applikationsart keine toxischen Erscheinungen. *Es sind also nicht die in der Bouillon etwa präformierten Toxine für das Versagen der O_2-Behandlung verantwortlich zu machen.*

ad c) Es bleibt die Vermutung übrig, daß die O_2-Behandlung deshalb erfolglos ist, weil sich unter dem schädigenden Einfluß des erhöhten O_2-Druckes Sporen bilden, die erst nach dem Aufhören der O_2-Einwirkung auskeimen. In diesem Fall würde die eigentliche Infektion nur zeitlich hinausgeschoben werden. Dementsprechend müßte — entsprechend den Versuchen von Campbell mit Tetanussporen — die Überlebenszeit durch die Sauerstoffbehandlung wenigstens verlängert werden, was jedoch im Gegensatz zu unseren Befunden steht. *Es kann also auch Sporenbildung kaum für das Versagen der O_2-Behandlung verantwortlich gemacht werden.*

3. Aerobe Wundkeime als Schrittmacher der Anaerobier.

Nach dem Gesagten ist also anzunehmen, daß dem Versagen der O_2-Behandlung eine andere Ursache zugrunde liegen muß. Ein erster Hinweis auf deren Natur ergab sich uns aus dem bakteriologischen Befund einiger in Tabelle 2 aufgeführten Tiere. Während sich aus den Organen der entsprechenden Kontrolltiere stets reichliche Mengen Anaerobier (Welch-Fränkel und Novy) züchten ließen, waren in einigen Fällen *die Organe der O_2-behandelten Tiere trotz durchschnittlich gleicher Überlebenszeit völlig frei von Anaerobiern. Dafür fanden sich hier reichlich Bazillen der Koligruppe.*

Dieser Befund war für uns außerordentlich ermutigend, denn er beweist, daß die Anaerobier unter den gewählten Versuchsbedingungen tatsächlich abgetötet worden waren; der trotzdem erfolgte Tod der Tiere dürfte daher mit der gleichzeitig bestehenden Infektion durch Aerobier in Zusammenhang stehen. In der Tat ist den aeroben Bazillen stets eine bedeutende Rolle beim Zustandekommen des Gasödems zugesprochen worden. So heißt es im bekannten Lehrbuch von Kolle-Hetsch S. 315: „Zum Zustandekommen der fortschreitenden Infektion müssen bestimmte Bedingungen gegeben sein, deren wichtigste folgende sind: Erstens große Wunden . . ., zweitens *gleichzeitiges Eindringen von aeroben Wundinfektionserregern, die nicht nur die Anaerobiose begünstigen,* sondern auch die Gewebe und den Gesamtorganismus für die anaerobe Wundinfektion disponieren. Auch von anderen Autoren wird immer wieder auf die große praktische Bedeutung der Mischinfektion mit Aerobiern hingewiesen. Indem diese in dem geschädigten und schlecht durchbluteten Wundgebiet den Sauerstoff aufzehren, schaffen sie nach dieser Auffassung jenes negative Redoxpotential, welches für die Entwicklung der Gasödemerreger Voraussetzung ist. *Die Aerobier sind also die Schrittmacher der anaeroben Infektion.* Fehlen sie, so geht die Infektion schwerer oder gar nicht an und es ist andererseits auch nicht verwunderlich, daß sich Infektionen mit Reinkulturen von Anaerobiern insbesondere solchen der Pararauschbrandgruppe, wie sie Domagk anwandte, durch geeignete Chemotherapeutika gut bekämpfen lassen. Aber auch bei künstlicher Infektion mit einem Anaerobiergemisch waren seine Erfolge mit der Marfanilbehandlung bezeichnenderweise so gut, daß sie in einem auffallenden Gegensatz zu der von uns beobachteten bescheidenen Wirkung der Sulfonamide bei der Mischinfektion mit aeroben Keimen stehen.

4. Ausschaltung der Aerobier durch Sulfonamid.

Die aus alledem sich ergebende entscheidende Rolle der Aerobier für das Zustandekommen des Gasödems legte uns nun den Gedanken nahe, daß das Mißlingen der reinen O_2-Behandlung ebenfalls auf dem

Vorhandensein sauerstoffzehrender Keime beruhen könnte. Es erschien uns deshalb der Versuch lohnend, eine kombinierte Behandlung durchzuführen und zuerst die gegen Sulfonamide empfindlicheren Aerobier durch eine geeignete Verbindung dieser Reihe auszuschalten, um sodann die Anaerobier mit Sauerstoff zu bekämpfen. Als Chemotherapeutikum verwendeten wir das von SCHREUS und FELD auch bei Gasödem wirksam befundenes Globuzid.

Um die erforderliche Mindestdosis zu ermitteln, stellten wir einige Versuche an, bei welchen wir das Globuzid zusammen mit der Mischkultur injizierten. Es ergab sich dabei, daß eine Konzentration in der Blase von 150 mg-% das Angehen der Infektion mit Sicherheit verhindert. Der Blaseninhalt wurde rasch resorbiert anstatt sich wie sonst zu vermehren und den charakteristischen Geruch aufzuweisen. Bei 100 mg-% vermehrte sich vorübergehend das Blasenvolumen ebenfalls ein wenig, um aber innerhalb 24 Stunden ebenfalls resorbiert zu werden. Auch wenn das Globuzid 2 Stunden nach der Infektion in die Quaddel gespritzt wurde, konnte der Ausbruch des Gasödems verhindert werden, wenn die Globuzidkonzentration in der Blase 150 mg-% erreichte. Nach diesen Erfahrungen mit lokaler Applikation wählten wir die therapeutische Einzeldosis von Globuzid zu 200 mg/kg intramuskulär (d. i. 0,3 ccm der 20%igen Lösung in den Oberschenkel der Tiere), um im Blut einen maximalen Globuzidspiegel von etwa 100 bis 150 mg-% zu erzielen. Diese Dosis wurde intramuskulär bis zu 4mal alle 3 Stunden injiziert.

5. Kombinierte O_2-Sulfonamidbehandlung.

Um gegebenenfalls den Anteil des Sauerstoffs an der Wirkung einer kombinierten Sulfonamid-O_2-Behandlung erkennen zu können, gingen wir so vor, daß innerhalb einer Versuchsgruppe ein Teil der Tiere als Kontrollen unbehandelt blieb. Ein anderer Teil erhielt Globuzid und nur der Rest wurde der kombinierten Globuzid-O_2-Behandlung unterworfen. Letztere Gruppe wurde nochmals unterteilt, indem einige Tiere erst nach 4 Stunden in die O_2-Atmosphäre gebracht wurden, während alle anderen unmittelbar nach der Infektion behandelt wurden.

Die Übersicht über die Gesamtheit dieser Versuche an 49 Tieren ist in Tabelle 3 gegeben.

a) Ergebnis der Behandlung mit Globuzid allein. Beginnen wir zunächst mit dem Ergebnis der alleinigen Globuzidbehandlung. Wir sehen, *daß die mittlere Überlebenszeit durch sofort nach der Infektion einsetzende Verabfolgung allerdings sehr großer Dosen immerhin von 16 auf 31 Stunden erhöht wird.* Verglichen mit den hervorragenden Ergebnissen der experimentellen Marfanilbehandlung (fast 100%ige Heilung innerhalb 6 Stunden-Grenze) und den unter vergleichbaren

Tabelle 3. *Überlebenszeit von gasbrandinfizierten Meerschweinchen bei verschiedener Behandlung.*

Versuch Nr.	Überlebenszeit in Stunden			
	Kontrollen	Globuzid	Globuzid + O_2 sofort	Globuzid + O_2 nach 4 Std.
14	12	36	52	38
	20	40	48	38
15	16	19	55	45
	18	35	67	45
		25		
16	16	36	52	45
	22	36	52	48
17	12	20	33	43
	14	12	50	37
	14	15	62	50
	15	32	48	42
18	12	35	58	—
	17	27	*	—
	18	32	*	—
Mittel:	**16**	**31**	**56**	**43**

Bedingungen gewonnenen Ergebnissen mit Penicillin des Oxforder Kreises ist diese Wirkung des Globuzids zweifellos sehr bescheiden. Der Unterschied erklärt sich jedoch zwanglos aus dem Umstand, daß es sich bei jenen Versuchen nur um die Infektion mit Reinkulturen handelte, die den Verhältnissen der chirurgischen Praxis in keiner Weise vergleichbar ist. Dies wird schlagend bewiesen durch das Versagen des Marfanils bzw. des Penicillins im vergangenen Kriege auf deutscher bzw. alliierter Seite. Von einer Kombination mit polyvalentem Gasbrandserum, das wir bei einigen Tieren (4) injizierten, haben wir keine Steigerung der Wirkung gesehen, entsprechend dem klinischen Urteil, z. B. von H. BECK[8], der beim Menschen Serumgaben von 50—200 ccm „meist ohne Erfolg" verwendete.

b) Ergebnis der kombinierten Behandlung mit O_2 und Globuzid. Von größerem Interesse ist nun das Ergebnis der kombinierten Behandlung mit Sauerstoff + Globuzid. Während wir wie oben erwähnt, die alleinige O_2-Behandlung sogar mit 3,5 at ohne Wirkung auf den Infektionsverlauf gefunden hatten, zeigt der vorletzte Stab der Tabelle, daß *sofortige Atmung von 1 at O_2 in Verbindung mit Globuzid von deutlichem Einfluß auf den Infektionsverlauf ist.* Wenn auch ohne chirurgischen Eingriff (Entleerung des Blaseninhalts) die Tiere nicht zu retten sind, so *verlängert sich doch die Zeit, die bis zum Tode vergeht, von durchschnittlich 16 auf 56 Stunden, d. i. auf rund das $3^1/_2$fache.*

* Öffnung der Blase nach 48 Stunden: Tiere überleben.

Da es unter praktischen Verhältnissen nie möglich sein wird, die O_2-Behandlung sofort nach der Infektion beginnen zu lassen, prüften wir die Ergebnisse der kombinierten Behandlung unter der Voraussetzung, daß Sulfonamid sofort, Sauerstoff aber erst nach 4 Stunden gegeben wird, d. i. nach Ablauf von $^1/_4$ der mittleren Überlebenszeit. *Selbst unter diesen Voraussetzungen ist der Sauerstoff in Verbindung mit Sulfonamid noch von günstigem Einfluß auf den Infektionsverlauf* und der reinen Sulfonamidbehandlung überlegen; auch bei diesem Vorgehen beträgt die Überlebenszeit noch das $2^1/_2$fache gegenüber den unbehandelten Tieren.

Zusammenfassung.

Da nach wenig beachteten Versuchen Campbells bekannt ist, daß ins lebende Gewebe von Tieren eingebrachte Tetanussporen unter erhöhtem Sauerstoffdruck (Einatmung von Sauerstoff) ein verzögertes Auskeimen zeigen, prüften wir in analogen Versuchen an Meerschweinchen den Einfluß von Sauerstoff auf den Verlauf einer sicher tödlichen Gasbrandinfektion. Hierbei wurde gefunden:

1. Unter Verwendung von Mischkulturen aus Gartenerde war Beatmung der Tiere sogar mit 3,5 at O_2 ohne Erfolg auf die Überlebenszeit, obwohl dadurch die örtliche Sauerstofftension auf Werte erhöht wird, unter denen die anaeroben Erreger abgetötet und ihre Sporen am Auskeimen gehindert werden müßten.

2. Im Gegensatz zu diesem negativen Ergebnis zeigte sich unter sonst gleichen Bedingungen eine Verlängerung der Überlebenszeit bis aufs $3^1/_2$fache schon mit 1 at O_2, wenn die Sauerstoffatmung mit großen Gaben des für sich allein nur wenig wirksamen Sulfonamids „Globuzid" kombiniert wurde.

Diese Versuche weisen auf die große Bedeutung der sauerstoffzehrenden Begleitbakterien hin, deren Vorhandensein die Behandlung des Gasödems mit Sulfonamiden und Penicillin in der Praxis viel undankbarer macht, als die Heilung von Laboratoriumstieren, die lediglich mit Reinkulturen von Anaerobiern infiziert worden sind.

Literatur.

[1] Campbell and Fildes: Brit. J. exper. Path. **12**, 77 (1931). — [2] Campbell: J. Physiol. (Brit.) **60**, 20 (1925). — [3] Campbell: J. Physiol. (Brit.) **68**, 7 B (1929 bis 1930). — [4] Becker-Freyseng: Habilitationsschr. 1944. — [5] Chudiakow: Zbl. Bakter., 2. Abt. **4**, 389 (1898). — [6] Schreus: Klin. Wschr. **1942**, Nr 1, 14. — [7] Domagk: Klin. Wschr. **1942**, 448. — [8] Killian: Die Penicilline, S. 40. Berlin 1946. — [9] Beck: Dtsch. Mil.arzt **8**, 98 (1943).

Aus der Abteilung für experimentelle Pathologie und Therapie des William-G.-Kerckhoff-Herzforschungsinstitutes in Bad Nauheim.

Kreislaufwirkung neuer adrenalinverwandter Substanzen *.

Von

Helmut Wick.

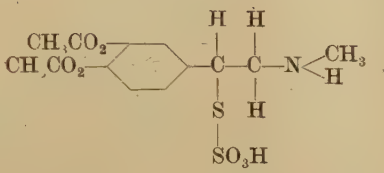
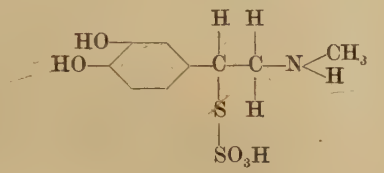
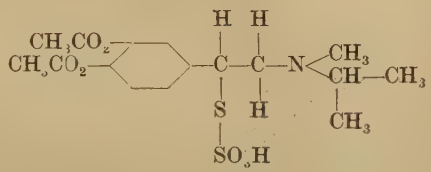
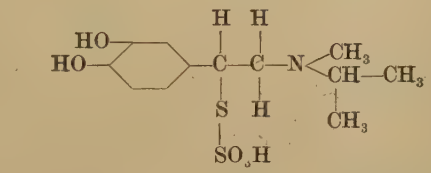
Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. September 1947.)

Seit der Reindarstellung des Adrenalins durch Aldrich[1] und Takamine[70, 71] und der Synthese des Suprarenins[69] haben sich Chemiker und Biologen immer wieder bemüht, Substanzen zu finden, die die Vorzüge des Adrenalins aufweisen, ohne aber nach Möglichkeit seine Nachteile zu besitzen. Zu den Vorzügen des Adrenalins ist unter anderem seine prompte pressorische Wirkung zu rechnen, die auch nach wiederholter parenteraler Applikation stets in gleicher Stärke eintritt, ferner die Möglichkeit, bereits stillstehende Herzen wieder zu rhythmischer Tätigkeit zu veranlassen; Wirkungen, die in diesem Ausmaß von keinem anderen Stoff erreicht werden. Zu seinen Nachteilen im pharmakologisch-therapeutischen Sinn gehört vor allem die Kürze und Flüchtigkeit seiner Blutdrucksteigerung, die oft noch eine Nachperiode mit Blutdrucksenkung zeigt. Die Verwandten und Abkömmlinge des Adrenalins zeigen, mit Ausnahme des Nor-Adrenalins, eine mehr oder minder deutliche Abschwächung der Blutdrucksteigerung und eine Verlängerung der Wirksamkeit, die Blutdruckkurven erscheinen ausgeglichener und protrahierter. In der 1940 erschienenen Zusammenstellung von M. Guggenheim[25] finden sich 344 untersuchte Phenylalkylamine (einschließlich Isomere), die teilweise auf Untersuchungen von Barger und Dale[5] und Tainter[72, 73, 74, 75, 76, 77] zurückgehen und die von Adrenalinwirkung bis zu pressorischer Unwirksamkeit und auch Blutdrucksenkung alle Übergänge zeigen; soweit wir in Erfahrung bringen konnten, befinden sich darunter keine Substanzen, die nach intravenöser Verabfolgung, bei nichttoxischer Dosierung, den Blutdruck länger als 30—40 Min. nennenswert über die Norm erhöhen. Es wäre deshalb von großem theoretischem und auch praktisch-klinischem Interesse, wenn es gelingen würde, neue Verbindungen zu finden, die diese bisher längste blutdrucksteigernde Wirkung, die das Ephedrin und seine Verwandten zeigen, beträchtlich übertreffen würden. Auf Grund von Überlegungen, auf die später noch einzugehen sein wird, wurden in der Firma

* Ausgeführt mit Mitteln der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim a. Rh.

C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim, eine Reihe neuer adrenalinähnlicher Stoffe synthetisiert und uns zur Prüfung übersandt, von denen 4 Substanzen, über deren Kreislaufwirkung nachfolgend berichtet wird, in der untenstehenden Aufstellung enthalten sind.

Arbeitsbezeichnung	Strukturformel	Chemische Bezeichnung
N_{14}		(3-4-)-Diazetyl-adrenalinthiosulfonsäure
VN_{14}		Adrenalinthiosulfonsäure
N_{18}		(3-4-)-Diazetyl-aludrinthiosulfonsäure
VN_{18}		Aludrinthiosulfonsäure

Eine Reihe der insgesamt 16 Substanzen war bereits von August 1944 bis Januar 1945 im Pharmakologischen Institut der Universität Wien (Vorstand: Prof. Rössler) von Dr. von Warsberg einer ersten Prüfung, hauptsächlich am Kaninchen auf Blutdruckwirkung, unterworfen worden; nach einer vorläufigen Mitteilung war dort besonders nach N_{14} eine langanhaltende, über 1 Stunde sich hinziehende Blutdrucksteigerung beobachtet worden. Durch die Kriegsereignisse konnten die Untersuchungen dort nicht weitergeführt und zu einem Abschluß gebracht werden, die vorläufigen Ergebnisse schienen aber eine eingehende Prüfung zu rechtfertigen.

Im folgenden soll über Versuche berichtet werden, die in der Abteilung für experimentelle Pathologie und Therapie des William-G.-Kerckhoff-Institutes in Bad Nauheim im Laufe des Jahres 1946 ausgeführt wurden und die speziell die Wirkung auf den Kreislauf des

Warmblüters beim Ganztier zum Gegenstand hatten. Es muß aber gleich zu Anfang betont werden, daß durch den zeitbedingten Mangel an Versuchstieren die neuen chemischen Körper nicht entfernt in dem Maße untersucht werden konnten, das ihnen bei ihrer Wirksamkeit als Sympathikuswirkstoffen zukommen müßte.

In zwei vorhergehenden Arbeiten, die von H. GÖPFERT durchgeführt wurden und über die noch gesondert berichtet wird, wurden die neuen Körper hinsichtlich ihrer allgemeinen Wirkung und ihrer Blutzuckererhöhung bei nichtnarkotisierten großen Hunden untersucht. Auf Grund dieser Versuchsergebnisse wurden die Substanzen N_{14}, VN_{14}, N_{18} und VN_{18} für eine nähere Kreislaufuntersuchung ausgewählt; aus einer anderen Fragestellung heraus wurden Aludrin und Adrianol mit in die Untersuchung einbezogen.

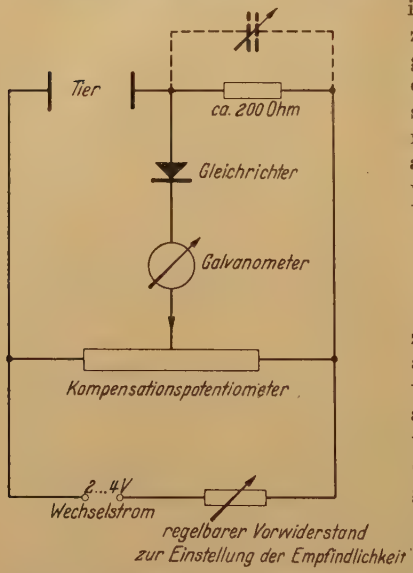


Abb. 1. Schema der Atmungsregistrierung mit Wechselstrom nach H. SCHAEFER. (Die Schaltung zur Kompensation der Kapazitanz bei kleinen Tieren ist gestrichelt gezeichnet.)

Methodik.

Die Untersuchungen wurden an 13 Katzen von 1,35—3,7 kg Gewicht in Chloralose-Urethannarkose und an 7 Hunden von 7—16 kg Gewicht in Morphin-Chloralosenarkose durchgeführt. Wir registrierten den arteriellen Blutdruck, die Atmung, das Stromvolumen in einem großen Blutgefäß, zeitweilig auch die Temperaturdifferenz Rektum gegen Haut einer Extremität und die Pulsfrequenz mittels Zeitordinatenschreiber, der entweder von den Herzaktionsströmen oder dem Blutdruckschreiber gesteuert wurde.

1. Der Blutdruck wurde photoelektrisch nach REIN[55] registriert, bei Katzen wurde die Blutdruckkanüle in die A. carotis, bei Hunden meist in die A. femoralis eingebunden. Als Sperrflüssigkeit diente in üblicher Weise 3,5% NaCitr. mit 0,1% Glukosezusatz. Eichung des Blutdruckes durch Quecksilbermanometer.

2. Die Atmung wurde nach SCHAEFER[62] in der Weise registriert, daß in einer WHEATSTONEschen Brückenanordnung die Widerstandsänderung des Brustkorbes bei der Atmung aufgezeichnet wurde. Die Brustwandelektroden, kleine Metallplättchen aus V2A-Stahl von etwa 2 mal 1 cm, wurden in Hauttaschen des Versuchstieres seitlich auf der Wand des Thorax versenkt. Für eine ungestörte Registrierung ist es wichtig, daß die Taschen gut verschlossen und mit Zelloidinleim verklebt werden, um Austrocknen und dadurch bedingte Widerstandsänderungen zu vermeiden. Um das Auftreten von Polarisationserscheinungen zu verhindern, wird an die Brückenschaltung Wechselstrom gelegt, der durch einen kleinen Trocken-(Selensperrschicht-)Gleichrichter für das Galvanometer gleichgerichtet wird (Abb. 1). Kompensation der Phasenverschiebung durch Kapazitanz bei kleinen Tieren siehe SCHAEFER[62]. Da in dieser Meßbrückenschaltung der wechselnde Widerstand des Thorax, der seinerseits wieder von dem

Luft- bzw. Flüssigkeitsgehalt der Brustorgane abhängt, gemessen wird, so kommen bei diesem Verfahren auch Vorgänge zur Registrierung, die sich sonst fortlaufend nur schlecht fassen lassen, nämlich die mittlere Atemlage, Stauungen im Lungenkreislauf und eventuell auftretendes Lungenödem. Entsprechend der während eines längeren Versuches sich ausbildenden Anschoppung zeigt die Atemkurve in ihrem Duktus eine langsame Verschiebung zur Expiration hin. Die Atem-

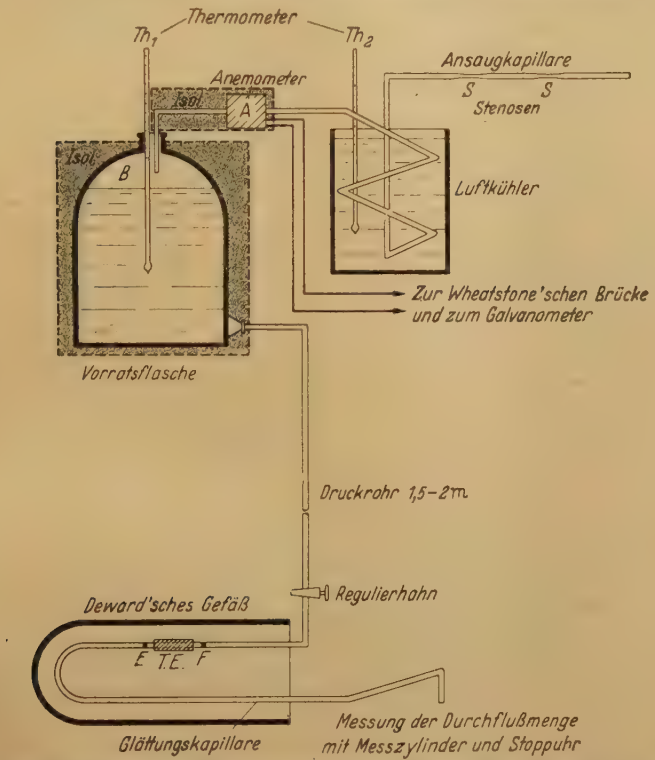


Abb. 2. Bei Eichungen der Thermoelemente der REINschen Thermostromuhr wird zwischen *E* und *F* eine Arterie oder Vene eingebunden und das Thermoelement *T. E.* angelegt. Die Meßanordnung wird durch ein DEWARDsches Gefäß isoliert. Unmittelbar vor das DEWARDsche Gefäß wird nach Bedarf eine Wärmeschlange geschaltet, die es gestattet, die durchströmende Ringerlösung oder das Blut auf Körpertemperatur zu bringen.

kurve ist also eine zusammengesetzte Kurve, die gelegentlich, wenn Atemmittellage und Blutfülle im kleinen Kreislauf sich gleichzeitig ändern, nicht eindeutig sein kann. Der Thoraxwiderstand ist jederzeit durch einen Ersatzwiderstand exakt in Ohm eichbar (Abb. 6). In unseren Versuchen hat sich diese Registriermethode als außerordentlich einfach und zuverlässig bewährt, Störungen sind während eines Versuches nie aufgetreten. Die Widerstände, Anschlußbuchsen und der Gleichrichter sind in einem kleinen handlichen Kästchen von 12 × 10 × 4 cm untergebracht; die Wechselspannung von 2—4 V liefert ein kleiner Netztransformator. — Alle Versuchstiere atmeten spontan durch Trachealkanüle.

3. Das Stromvolumen wurde mit der Thermostromuhr nach REIN[56] in der Aorta abdominalis oder V. cava abdominalis bestimmt, da bei der Größe der Thermoelemente im Verhältnis zu den Versuchstieren (meist Katzen) andere Gefäße nicht in Frage kamen. Die von uns benutzten Thermoelemente waren von unserem Institutsmechaniker in der Werkstatt des Physiologischen Institutes Göttingen angefertigt worden und entsprechen den Anforderungen, die hinsichtlich Einstellungsgeschwindigkeit (Luftpolster hinter der Meßlötstellenelektrode) und Symmetrie der Ausschläge zu stellen sind. Besondere Aufmerksamkeit wurde der *Eichung der Thermoelemente* gewidmet, um festzustellen, ob die Meßergebnisse

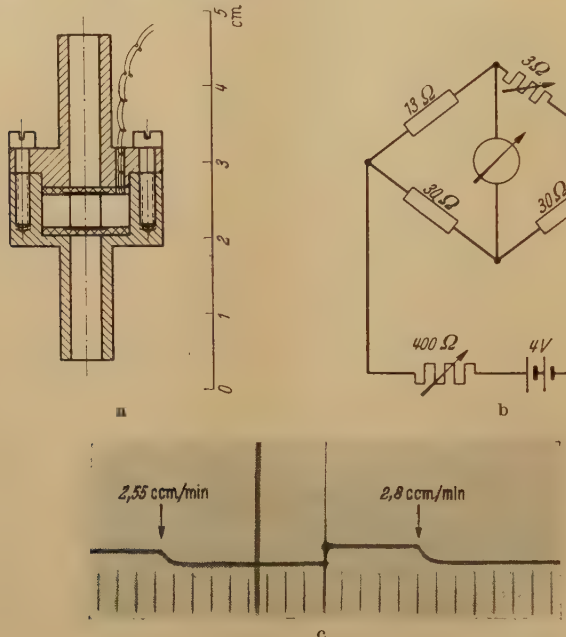


Abb. 3 a—c.

der REINschen Thermostromuhr exakt quantitativ zu verwerten sind. Die zu diesem Zweck benutzte Eichanordnung zeigt Abb. 2. Die aus der Vorratsflasche, Druckrohr und Kapillare ausfließende Blutmenge saugt ein gleichgroßes Luftvolumen durch ein Anemometer nach. Das Anemometer (Abb. 3a) ist eine Hitzdrahtmeßdüse, wie sie in ähnlicher Form von HOLZLÖHNER[33, 34] und von ANREP und Mitarbeitern[3] für Tachogramme bereits benutzt worden ist. Unter Wahrung bestimmter Kautelen läßt sich mit dem Anemometer auch *quantitativ* sehr exakt arbeiten. Wir verwendeten es in einer WHEATSTONEschen Brücke, die benützte Schaltung zeigt Abb. 3b. Die Empfindlichkeit wurde am regelbaren Vorwiderstand so eingestellt, daß Stromvolumina von 0—25 ccm/min. einen brauchbar großen Galvanometerausschlag gaben. Wichtig für die Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse ist vor allem die Konstanthaltung der Stromstärke. Das Anemometer muß thermisch sehr gut isoliert sein, am besten packt man eine dicke Lage Watte um das Gehäuse. Um eine gute Konstanz der sog. Nullinie (Heizstrom eingestellt, keine Luftdurchströmung) zu erreichen, sollen die Flüssigkeit und der Totraum B in der Vorratsflasche möglichst die gleiche Temperatur wie die

umgebende Luft haben. Die Vorratsflasche wird ebenfalls thermisch isoliert. Da die Empfindlichkeit des Anemometers in unserer Versuchsanordnung so groß war, daß Gebäudeschwingungen, Türenschließen usw. als Störungen bemerkbar wurden,

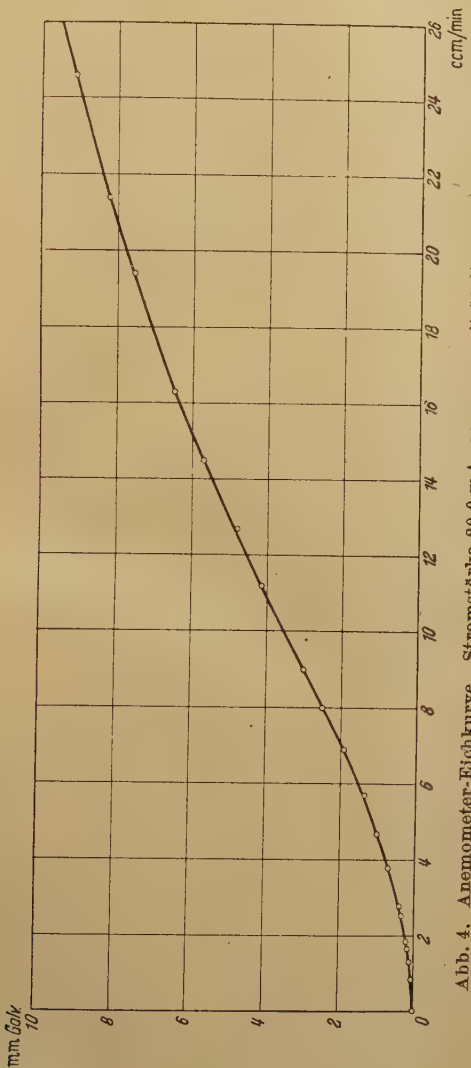


Abb. 4. Anemometer-Eichkurve. Stromstärke 20,0 mA, gemessen mit Multavi I Nr. 1737809. Vorschaltwiderstand 193 Ω. 12. 5. 46.

	Versuchs-Anfang	Ende		Versuchs-Anfang	Ende
Luft:	22,2	21,5	Vorratsflasche:	21,3	21,0° C
Luftkühler:	21,4	21,0	Flüssigkeitskühler:	20,0	21,3° C

Galvanometer Ruhstrat 54242, aperiodischer Grenzwiderstand 15 000 Ω, Filmabstand 130 cm.

benutzten wir eine Ansaugkapillare, die zur Dämpfung 1—2 Stenosen aufwies. Die dadurch stark verringerte Einstellgeschwindigkeit des Anemometers war für unsere Zwecke belanglos.

Die Eichung des Anemometers wurde in der Weise vorgenommen, daß wir aus der Vorratsflasche Wasser in verschiedenen Geschwindigkeiten ausfließen ließen; die Messung der Durchflußmenge erfolgte mit Stoppuhr und Meßzylinder. Abb. 3 c

zeigt einen Ausschnitt aus einer Teileichung. Beim Pfeil wird der Durchfluß gesperrt, um die Nullinie jeweils mitzuregistrieren. Die Gesamteichkurve des Anemometers ist in Abb. 4 wiedergegeben, sie verläuft also anders als die Eichkurve HOLZLÖHNERS [34]. Wir haben die Anordnung auch ohne Ansaugkapillare benutzt und haben Blut von Körper- bis Zimmertemperatur ausfließen lassen. Hierbei zeigte es sich, daß es trotz einer langen Ausflußkapillare, die zur Glättung und Erzielung einer laminaren Strömung dient, nicht möglich ist, bei Blut eine genau konstante Ausflußgeschwindigkeit zu erreichen. Offenbar enthält das mit Natrium citricum ungerinnbar gemachte Blut doch noch reichlich feinste Gerinnsel und Verklumpungen, die ein glattes gleichmäßiges Ausströmen unmöglich

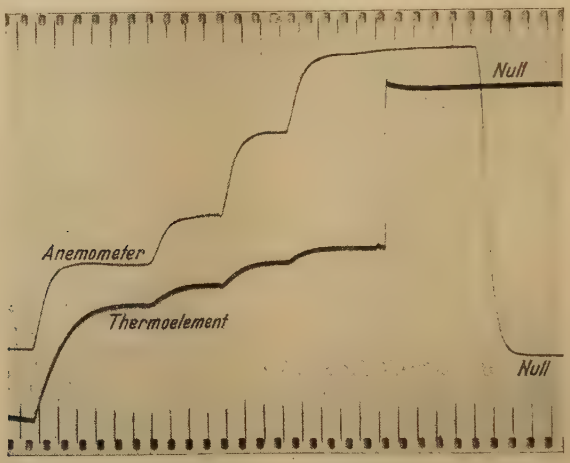


Abb. 5. Eichkurve eines Thermoelementes. Obere Kurve = Anemometer, untere Kurve Thermoelement mit den zugehörigen Nullinien.

machen. Diese kleinen Schwankungen in der Durchflußgeschwindigkeit fallen aber für Messungen bei den Thermoelementen nicht ins Gewicht, da es sich bei uns nur um Minutenvolumina, also bereits Durchschnittswerte, handelt. Jedenfalls empfiehlt es sich aber, bei der Eichung des Anemometers selbst Wasser als Ausströmungsflüssigkeit zu nehmen.

Die Eichung der Thermoelemente wurde mit Blut und Ringerlösung, bei Temperaturen von 38—18° C und mit verschiedenen Gefäßen, Arterien und Venen, durchgeführt. Durch Wärmschlangen, die unmittelbar vor das DEWARDsche Gefäß (Abb. 2) geschaltet wurden, brachten wir das Blut, das durch 10% einer 5%igen Natrium-citricum-Lösung ungerinnbar gemacht worden war, auf die gewünschte Temperatur. Eine thermische Rückwirkung auf die Anemometermeßanordnung trat nicht ein. Die eigentliche Thermoelementeichung ging so vor sich, daß am Regulierhahn laufend verschieden große Ausflußgeschwindigkeiten eingestellt wurden und die Galvanometerausschläge von Thermostromuhr und Anemometer gleichzeitig registriert wurden. Gegenüber dem von REIN [56] verwandten Rotameter hat unsere Anordnung den Vorteil der selbsttätigen Übertragung und der größeren Meßgenauigkeit. Einen Ausschnitt aus einer Originaleichkurve zeigt Abb. 5. Die Arterie oder Vene wurde in dem DEWARDschen Gefäß nach den Vorschriften von REIN zwischen zwei Kapillarenden ausgespannt und das zu eichende Thermoelement an dem Gefäß befestigt. In einem Teil der Versuche verklebten wir das Thermoelement mit Zelloidin an dem Gefäß, in anderen

Versuchen wurde das Element ohne Zelloidin fixiert. Einen Unterschied in den Eichergebnissen konnten wir dadurch nicht feststellen. Die Luft in der DEWARD-schen Flasche wurde mit einem wassergetränkten Wattebausch feucht gehalten.

In Übereinstimmung mit den Angaben von REIN[56] fanden wir, daß man für ein Thermoelement die gleichen Eichkurven erhält, ob man nun Blut oder Ringerlösung, von Körper- oder Zimmertemperatur, durchfließen läßt. Dagegen zeigte es sich aber, daß die Art des tierischen Gefäßes (wir verwendeten Mesenterialarterien und -venen vom frisch geschlachteten Rind) von sehr großem Einfluß auf Ausschlaggröße und Empfindlichkeit des Elementes ist. Bei Eichversuchen mit starkwandigen Arterien und dünnwandigen Venen ergab sich stets, daß bei Arterien der Gesamtausschlag, also die Entfernung von der Nullinie groß und der Exponent des Elementes flach war; bei Venen der Gesamtausschlag kleiner und der Exponent steiler war, d. h. das Element reagierte deutlicher auf Änderungen der Durchflußmenge. Auch wir sind der Ansicht, daß entsprechend den Angaben von REIN[56] und den Berechnungen von BECKER[6] die Wanddicke der Gefäße für den Wärmeübergang von der Flüssigkeitssäule zu den Meßlötstellen des Elementes ohne Bedeutung ist. Aber wir können uns nicht der unausgesprochenen Voraussetzung anschließen, daß die zwischen den Heizelektroden wirksam werdende Wärmemenge lediglich die Blutsäule und nicht die Gefäßwand, zumal bei größerer Wandstärke wie dies bei Arterien der Fall ist, aufheizt. Eine weitere Fehlerquelle ist der verschiedene Feuchtigkeitsgrad der Gefäßaußenwand, die in unseren Eichversuchen deutlich in Erscheinung trat und sich in der Richtung auswirkte, daß sowohl der Gesamtausschlag als auch der Exponent des Elementes bei zunehmender Feuchtigkeit der Gefäßaußenwand geringer wurde, also die Wirkung eines Wärme-Shunts zwischen den Meßlötstellen ausübte. Die unterschiedliche Wärmeverteilung des Diathermiestromes auf Blutsäule und Wand, die gegen Blut verschiedene Wärmekapazität und -leitfähigkeit der Gefäßwand und der verschiedene Feuchtigkeitsgehalt des umgebenden Gewebes bzw. Flüssigkeitsansammlung um das Thermoelement und das Eindringen eines Flüssigkeitsfilmes zwischen Gefäßwand und Meßlötstellen komplizieren die Verhältnisse so sehr, daß es *nicht möglich erscheint, für ein Thermoelement allein eine stets gültige Charakteristik aufzustellen.* Dagegen erscheint uns eine Versuchsanordnung mit feststehender Relation Element : Gefäßwand in Form einer blutigen Schlußeichung durchaus reproduzierbare Durchflußwerte anzugeben. Da es in unseren Versuchen weniger auf die Messung der absoluten Durchflußmengen als auf die Verzeichnung qualitativer Änderungen, die auch in den Modellversuchen stets richtig wiedergegeben wurden, ankam, haben wir auf eine zahlenmäßige Erfassung der Stromvolumina verzichtet.

Bei kleineren Tieren, bei denen sich ein Thermoelement an einem Gefäß einer Extremität nicht anlegen ließ, haben wir uns einen Einblick in die peripheren Durchblutungsänderungen zu verschaffen versucht, indem wir unter die Haut einer Extremität eine Thermonadel (Thermolötstelle) einstachen und die Vergleichslötstelle ins Rektum einbrachten. Wir konnten so bei Änderungen der Temperaturdifferenz Kern-Schale des Tieres, unmittelbar nach Injektion einer kreislaufwirksamen Substanz, auf Durchblutungsänderungen in der Extremität schließen. Die Resultate sind jedoch, besonders wenn es sich um längere Zeiträume und nur geringgradige Änderungen handelt, nur mit Vorsicht zu deuten, da Kreislaufänderungen im Dienste der Wärmeregulation in der Temperaturkurve mitenthalten sind.

4. Schließlich registrierten wir noch die Pulsintervalle als Ordinaten in der prinzipiellen Weise, die FLEISCH[21] und LULLIES[45] als Zeitordinatenschreiber angegeben haben. Wir verwandten für unsere Versuche eine verbesserte Schaltung

nach SCHAEFER[62]. Der Grundkipprhythmus wurde so eingestellt, daß er langsamer als die größte zu erwartende Bradykardie war. Als Steuerspannung zur Verzeichnung der Pulsintervalle benutzten wir die Photozellenströme des REINschen Blutdruckschreibers oder auch gelegentlich die Herzaktionsströme, die wir über einen großen Kapazitäts-Widerstandsverstärker nach SCHAEFER[64] verstärkten. Über einen variablen Widerstand, der die Größe der Ausschläge zu verändern gestattet, gaben wir die Ströme auf ein REINsches Drehbügelgalvanometer. Die Handhabung des Gerätes ist in der Praxis nicht einfach, weil man in jedem einzelnen Versuch durch individuelle Kapazitätsankoppelung und Siebung der Steuerspannung vermeiden muß, daß bereits Dikrotien oder atemsynchrone Blutdruckschwankungen bzw. P- oder T-Zacken des Ekg den Kippvorgang auslösen. Auch bei unserer Zeitordinatenschreibung machen sich, bei Steuerung durch den Photozellenstrom des Blutdruckschreibers, die atemsynchronen Blutdruckschwankungen in der Weise bemerkbar, daß bei der Inspiration die Steuerspannungen früher und bei der Expiration später ausgelöst werden. Die respiratorische Arrhythmie erscheint bei dieser Steuerungsart wesentlich vergrößert; die Einwände, die HAMMOUDA gegen den Pulsverstärker von TITSO[79] erhebt[27], bestehen auch gegen unsere Zeitordinatenschreibung. Bei Steuerung durch die R-Zacken des Ekg entfällt diese Fehlerquelle. Die Galvanometerausschläge sind so zu lesen, daß einer Verlängerung des Ausschlages nach oben eine Vergrößerung des Pulsintervalles entspricht (Bradykardie), umgekehrt eine Verkürzung einer Tachykardie. Die Eichkurve der Zeitordinatenschreibung ist entsprechend der exponentiellen Funktion der Aufladung des Kondensators einfach logarithmisch (Abb. 6, 7 und 8). Die Eichung erfolgt durch Auszählen verschiedener regelmäßiger Grundrhythmen; sie kann auch aus der Zeitkonstante, der Zünd- und Abreißspannung der Entladeröhre berechnet werden (hierzu SCHAEFER[63]).

II. Ergebnisse.

1. Diazetyladrenalinthiosulfonsäure (N_{14}).

Als ein Beispiel für die Wirkungsweise der Substanz N_{14}, die wir in allen Versuchen immer wieder sahen, sei in Abb. 6 ein Ausschnitt aus einer Versuchskurve wiedergegeben. Kurz nach der intravenösen Injektion von 10 mg/kg Körpergewicht N_{14}, im Durchschnitt nach 7—10 Sek., kommt es zu einer kurzdauernden Blutdrucksenkung auf den paralytisch niedrigen Wert von etwa 25—30 mm Hg; dann jedoch, rund 20 Sek. nach Injektionsbeginn, steigt der Blutdruck steil an bis auf Werte von 160—180 mm Hg unter gleichzeitiger deutlicher Vergrößerung der Blutdruckamplitude. Parallelgehend mit diesem Anstieg zeigt uns die Thermostromuhr eine Verminderung des Stromvolumens in der Aorta abdominalis als Ausdruck einer peripheren Gefäßverengerung an. Zugleich mit dem Ansteigen des Blutdruckes stellt sich eine Bradykardie ein, von der anzunehmen ist, daß sie über die Karotis-Sinusreflexe ausgelöst wird[30]. Die Atmung wird kleiner und langsamer, es stellen sich kurzdauernde Atemstillstände ein. Die Atemmittellage verschiebt sich gegen die Expiration hin; auch während der kurzen Atemstillstandszeiten sinkt die Atemkurve weiter ab und zeigt so an, daß der elektrische Lungenwiderstand

kleiner, die Thoraxorgane flüssigkeitsreicher geworden sind. Wir möchten den Befund mit P. TRENDELENBURG[80] so deuten, daß es auf Grund

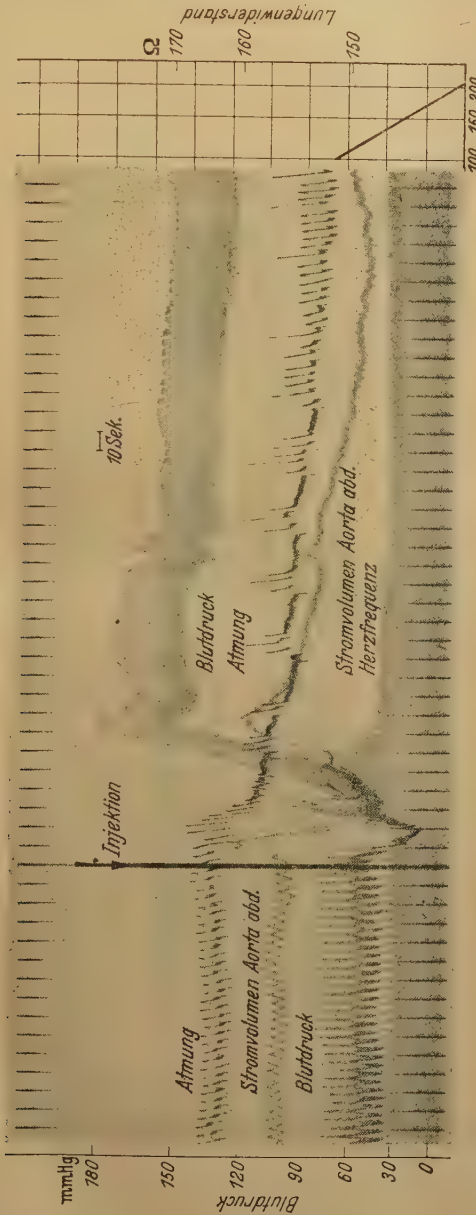


Abb. 6. Katze, 2,3 kg. Chloralose-Urethan. Reihenfolge der Kurven, von oben nach unten: 1. Blutdruck aus der A. carotis, 2. Atmung durch Registrierung des Wechselstromwiderstandes des Thorax (Einatmung nach oben), 3. Stromvolumen in der Aorta abdominalis, Zunahme der Durchströmung = Ausschlag nach oben (Thermostromuhr nach REIN), 4. Herzschlagfrequenz je Minute, registriert mit dem vom Blutdruck gesteuerten Zeitordinatenschreiber. Vergrößerung des Galvanometerausschlages = Vergrößerung des Herzschlagintervalles. Zeitschreibung 10 Sek. Beim Signal wird 10 mg/kg Körpergewicht N_{14} in die V. femoralis gespritzt.

der fast maximal kontrahierten Peripherie des großen Kreislaufes das Blut im Lungenkreislauf zurückgestaut wird. Der Blutdruck hält sich

nun ungefähr 5 Min. auf dem erreichten hohen Niveau, um dann langsam abzusinken, die Atmung normalisiert sich bereits nach 1 Min. Ebenso steigt die Pulsfrequenz wieder an, es bildet sich sodann, da in diesem

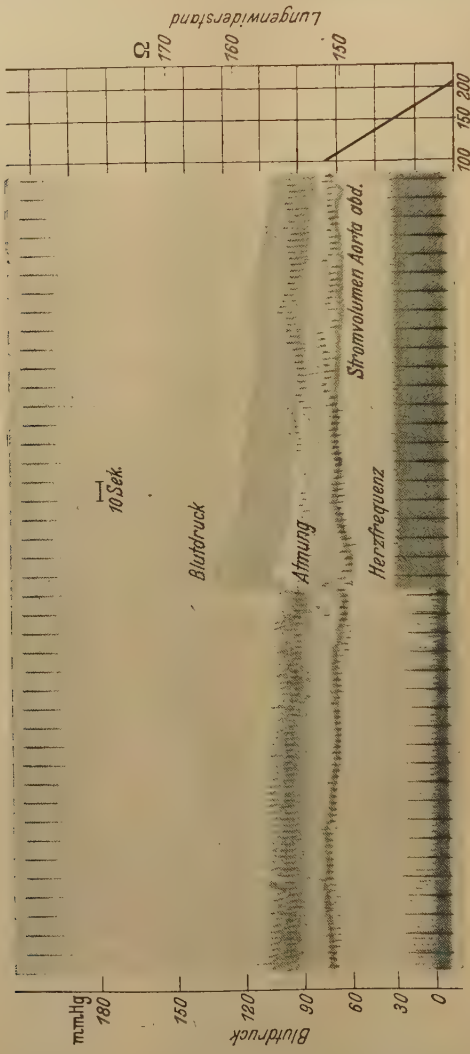


Abb. 7. Der gleiche Versuch wie in Abb. 6. Im Anschluß an die Injektion von N_{14} ist es zu einer Reizbildungs- und Überleitungsstörung gekommen. In der Mitte der Abbildung, 16 Minuten nach der Injektion des Pharmakons kommt es zu einer spontanen Regularisierung der Herzfrequenz.

Versuch die Dosierung von N_{14} mit 10 mg/kg im toxischen Bereich lag, eine ausgesprochene Tachyarrhythmie aus. In der Mitte der Abb. 7 sehen wir nun, wie es *spontan* zu einer Regularisierung der Herzschlagfolge kommt und wie wesentlich für den Wirkungsgrad des Herzens die genügende diastolische Füllung ist. Im Augenblick der Herzfrequenzänderung kommt es zu einer nur wenige Sekunden anhaltenden

Mehrdurchströmung in der Aorta, die wir als Abtransport des venösen Einflußstaues deuten möchten; anschließend stellt sich praktisch die gleiche Durchblutungsgröße wie vor der Pulsregularisierung ein, trotz des erhöhten systolischen und mittleren Blutdruckes und entsprechend erhöhter Druckamplitude. Der Blutdruck sinkt nun weiter und hat nach 20—25 Min. seine Ausgangshöhe wieder erreicht. Auffallend war bei unseren Versuchen mit N_{14}, wie lange die Versuchstiere überlebten, obwohl sie zum Teil vagotomiert und auch entblutet wurden. Wir hatten den Eindruck, daß N_{14} die postoperative Kollapsbereitschaft offenbar erheblich herabsetzt. Dagegen konnten wir feststellen, daß die Wirkungsdauer von N_{14} gegenüber nichtnarkotisierten Hunden wesentlich verkürzt war, ein Befund, den wir auch besonders hinsichtlich der Kreislaufwirkungen des Aludrins (s. unten) erheben konnten. Das Wirkungsoptimum schien bei der Katze bei 4—6 mg/kg Körpergewicht zu liegen, bei 2—3 mg/kg ist nur die kurze initiale Blutdrucksenkung zu sehen. Die Vagotomie zeigte keinen Einfluß auf die Blutdruckwirkung, tachyphylaktische Erscheinungen haben wir nicht beobachtet.

Diazetyladrenalinthiosulfonsäure (N_{14}) bewirkt bei narkotisierten Katzen und Hunden in einer Dosierung von 6 mg/kg eine Blutdrucksteigerung um rund 100%, die durch periphere oder peripher-reflektorische Vasokonstriktion verursacht wird. Eine fördernde Herzwirkung ist vorhanden, doch überwiegt die Wirkung auf die Gefäße. Die Wirkung hält etwa 20 Min. lang an.

2. *Adrenalinthiosulfonsäure* (VN_{14}).

Nach Gaben von 5 mg/kg Körpergewicht VN_{14} steigt bei der Katze der systolische Blutdruck um rund 40%, während der diastolische Druck sich nur wenig verändert. Im Vordergrund steht also die bedeutende Zunahme der Blutdruckamplitude im Sinne einer Steigerung des Schlagvolumens. Die Durchströmung in der V. cava inf. ist anfänglich wenig verändert, später zeigt sie eine Zunahme der Durchströmung. Die Atmung erscheint wenig beeinflußt, wahrscheinlich wohl, weil eine größere Erregung der Pressorezeptoren ausbleibt. Während des kurzdauernden Blutdruckanstieges kommt es zu einer Pulsverlangsamung, die aber kaum länger als 1 Min. anhält. Nach etwa 10 Min. sind die Kreislaufeffekte abgeklungen.

Bei der Adrenalinthiosulfonsäure (VN_{14}) steht die Herzwirkung im Vordergrund, die sich in einer starken Erhöhung des Schlagvolumens und trotz Bradykardie auch des Minutenvolumens äußert. Die Gefäßwirkung tritt zurück, die Wirkung ist, verglichen mit N_{14}, verhältnismäßig flüchtig.

3. *Diazetylaludrinthiosulfonsäure* (N_{18}).

Eine Wirkungsweise völlig anderer Art zeigt die nächste untersuchte Substanz, N_{18}. Nach der Injektion von 5 mg/kg Körpergewicht kommt es bei der *Katze* innerhalb von 30 Sek. zu einer starken Blutdrucksenkung bis auf 30—10 mm Hg und starker *Pulsverlangsamung*, also zu einem bradykarden Kollaps vom Typ JARISCH-BEZOLD (Abb. 8). Die Atmung sistiert vorübergehend auf der Höhe der Bradykardie, ist später aber merklich beschleunigt und vertieft. Die Blutströmung in der V. cava steigt an, wie es einer allgemeinen reflektorischen oder

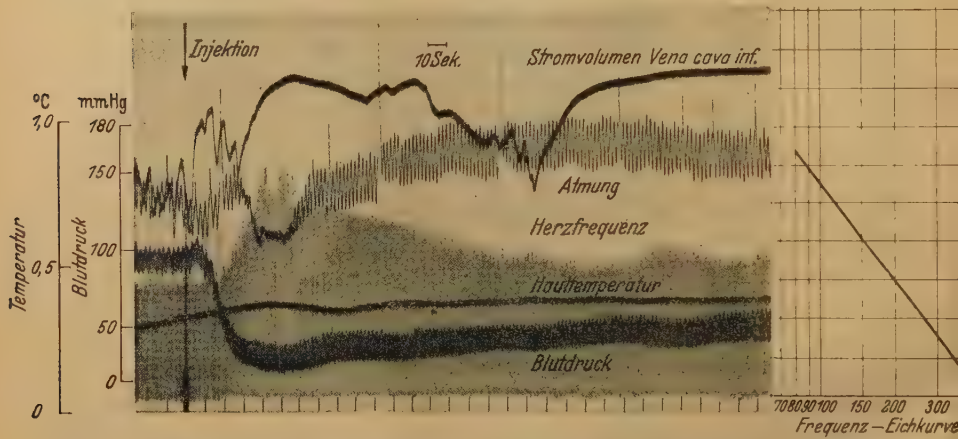


Abb. 8. Katze, 3 kg. Chloralose-Urethan. Reihenfolge der Kurven, von oben nach unten: Stromvolumen in der V. cava abdominalis, dicht oberhalb der Teilungsstelle in die Vv. iliacae (REINsche Thermostromuhr). Ausschlag des Galvanometers nach oben = Zunahme der Durchströmung. 2. Atmung, registriert als Änderung des Wechselstromwiderstandes des Thorax bei den Atemexkursionen. Einatmung nach oben. 3. Blutdruck aus der A. carotis, photoelektrische Transmission. 4. Hauttemperatur einer Extremität, Vergleichslötstelle in einem DEWARDschen Gefäß. Zunahme der Hauttemperatur = Ausschlag des Galvanometers nach oben. 5. Herzschlagfrequenz je Minute, registriert mit dem vom Photozellenstrom des Blutdruckschreibers gesteuerten Zeitordinatenschreiber. Zunahme der Ausschlaglänge = Vergrößerung des Pulsintervalls = Bradykardie. Filmgeschwindigkeit 0,5 mm/Sek. Zeitmarken 10 Sek. Beim Signal wird dem Tier 5 mg/kg Körpergewicht N_{18} in die V. femoralis injiziert.

direkten Vasodilatation entspricht. In der Folge steigt der Blutdruck nun wieder langsam an und hat nach 15—20 Min. seine Ausgangslage wieder erreicht, steigt jetzt aber weiter an bis zu einem Maximum von 160—140 mm Hg etwa eine Stunde nach der Injektion. Nach $1^1/_2$ Stunden ist er mit 150—130 mm Hg noch beträchtlich über der Ausgangslage. Bei einer Wiederholung der Injektion zeigt sich derselbe Reaktionsablauf, nur bleibt dieses Mal die vorübergehende Hemmung der Atmung aus.

Bei gleicher Dosierung von 5 mg/kg Körpergewicht verursacht N_{18} beim *Hunde* eine Blutdrucksenkung mit *Tachykardie*, im übrigen zeigt sich kein wesentlich anderes Verhalten.

Eine genauere Analyse von Blutdruck und Herzfrequenz, zunächst beim *Hund* mit erhaltenen Pressorezeptoren und Vagi, dann nach Ausschaltung aller

Abb. 9. Katze, 2,2 kg. Chloralose-Urethan. Blutdruck aus der A. femoralis, stark gedämpft. Künstliche Atmung, elektrisch mit Brustwandelektroden nach SCHAEFER registriert. Zeitschreibung 10 Sek. Das Tier erhielt 15 mg/kg Ergotaminum tartaricum refracta dosi intraperitoneal. Aortennerven ausgeschaltet. Beim 1. Signal: rechte Karotis zu, beim 2. Signal: linke Karotis zu, beim 3. Signal: beide Karotiden auf. 4. Signal: 0,007 mg/kg Adrenalin intravenös. 5. Signal: Ende der Injektion (0,5 ccm Ringer nachgespritzt). Die Pressorezeptoren sind noch funktionsfähig, wenn auch die Wirkung abgeschwächt ist. Auf Adrenalin erfolgt Blutdrucksenkung.

Pressorezeptoren und zuletzt nach Vagotomie zeigt, daß das Ausmaß der Blutdrucksenkung nach N_{18} durch die Tachykardie des Hundes nicht unerheblich gemindert

wird. So sinkt im ersteren Falle (erhaltene Pressorezeptoren und Vagi) der Blutdruck nach 8 mg/kg N_{18} auf 50%, während die Herzfrequenz um 250% zunimmt. Nach Ausschaltung aller Pressorezeptoren fällt der Blutdruck auf 30%, die

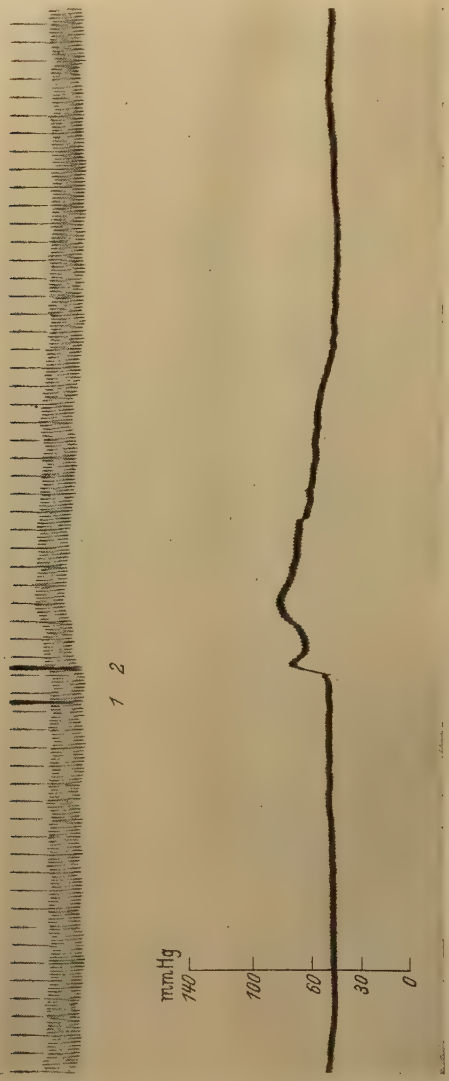


Abb. 10. Das gleiche Tier wie Abb. 9, etwa 30 Min. später. Beide Sinusnerven sind abgeschnürt und das Zwischengewebe in der Karotisgabelung gründlich zerstört. Bei Abklemmung beider Karotiden zur Kontrolle der Durchtrennung steigt der Blutdruck nicht mehr an. Beim 1. Signal: 0,007 mg/kg Adrenalin intravenös. 2. Signal: Ende der Injektion (0,5 ccm Ringer nachgespritzt). Es tritt keine Adrenalinumkehrwirkung mehr auf.

Frequenz steigt um 100%. Nach Vagotomie sinkt der Blutdruck bei konstanter Herzfrequenz nach 4 mg/kg N_{18} auf 25% ab (Maximalwerte), jedoch sind wegen der langen Wirkungsdauer des Pharmakons und der pressorischen Nachphase die Ausgangswerte weitgehend verschieden. Jedenfalls geht daraus zweifelsfrei hervor, daß die Blutdrucksenkung nach N_{18} nur durch Angriff am Gefäßapparat

und nicht kardial zustande kommt. Beim Hunde mit erhaltenen Pressorezeptoren und Vagi ist also die Herzfrequenzbeschleunigung als Gegenregulation gegen die Blutdrucksenkung nach N_{18} am stärksten (+ 250%), weil sie sich aus 2 Komponenten zusammensetzt, erstens der Frequenzsteigerung durch die Pressorezeptoren und zweitens der Steigerung durch vermehrtes venöses Blutangebot (BAINBRIDGE-Reflex). Nach Ausschaltung der Pressorezeptoren wird die Herzfrequenzsteigerung (+ 100%) nur noch durch den BAINBRIDGE-Reflex hervorgerufen, der nach Vagotomie auch noch ausfällt und so die Blutdrucksenkung maximal zur Geltung kommen läßt. Bei der *Katze*, bei der nach N_{18} eine Bradykardie auftritt (Abb. 8), scheint für das Entstehen der Blutdrucksenkung die Peripherie in gleichem Maße verantwortlich zu sein. Dafür spricht, daß die Pulsverlangsamung erst dann auftritt, wenn der Blutdruck schon die Hälfte bis $^2/_3$ seines Abfalles erreicht hat und ferner der Umstand, daß auch nach Einsetzen der Bradykardie keine Änderung im Duktus der Blutdruckkurve zu beobachten ist.

In einer *Kombination* von 2 mg/kg N_{14} und 3,5 mg/kg N_{18} zeigte sich beim Hund, daß die Substanz N_{14} sich in der Anfangsphase durchsetzte, der Blutdruck also stark anstieg und nur langsam und wenig von seinem hohen Niveau absank, während in der zweiten Phase anscheinend N_{18} den Blutdruck langsam in einer flachen Kurve wieder in die Höhe trieb. Noch nach 60 Min. war beim vagotomierten Hunde ein Maximum des Blutdruckes noch nicht erreicht, obwohl das Tier schon 12 Stunden im Versuch war.

Diazetylaludrinthiosulfonsäure (N_{18}) ist eine Substanz, die in zwei Phasen, peripher oder peripher-reflektorisch, vielleicht über zwei verschiedene Angriffspunkte wirkt. In der ersten Phase erfolgt bei der Katze eine Blutdrucksenkung mit Bradykardie, beim Hunde eine Senkung mit Tachykardie. Etwa 20 Min. nach der Injektion schließt sich die zweite Wirkungsphase in Form einer flachen Blutdrucksteigerung an, die 60—70% des Ausgangsblutdruckes beträgt und die über eine Stunde lang anhält. Bei einer Kombination von N_{14} mit N_{18} setzen sich von beiden Stoffen lediglich die pressorischen Komponenten durch.

4. Aludrinthiosulfonsäure (VN_{18}).

Bei Dosierungen von 3—6 mg/kg Körpergewicht verhielt sich VN_{18} bei Katzen ähnlich wie N_{18}, also ebenfalls eine Blutdrucksenkung mit Bradykardie erzeugend, nur waren die Änderungen der Kreislaufgrößen weniger schroff ausgeprägt als die bei N_{18}. Auch hier fanden wir das gleiche diphasische Verhalten, zuerst deutlichen Blutdruckabfall, der übrigens wie bei N_{18} von den Versuchstieren ohne erkennbare Schädigung vertragen wurde, mit Pulsverlangsamung und dann langsames Ansteigen des Blutdruckes zur Norm und darüber hinaus. Noch 70 Min. nach der Injektion beträgt der Blutdruck 135—100 mm Hg gegenüber einer Ausgangslage von 100—70 mm Hg.

VN_{18} wirkt qualitativ in gleicher Weise in zwei verschiedenen Phasen wie N_{18}, nur sind alle Veränderungen weniger stark ausgeprägt.

5.

Anderer Art war die Aufgabe, die wir uns bei unseren Untersuchungen über die Kreislaufwirkungen des *Aludrins* gestellt hatten. Bei der Medikation von Aludrin wird oft die sich einstellende Tachykardie, die schon die ersten Untersucher[37] feststellten, als störend empfunden; sie ist besonders stark bei parenteraler Applikation ausgeprägt. Die Frage lautete: Ist es durch Kombination mit geeigneten Verbindungen möglich, die Aludrintachykardie zu kompensieren? Unsere Versuchsanordnung mit dem Zeitordinatenschreiber schien zur Untersuchung dieser Frage besonders geeignet.

Von Wichtigkeit war die Art der Versuchstiere. Katzen waren für unsere Untersuchungen nicht geeignet, da Aludrin bei ihnen eine Bradykardie hervorruft, dagegen erzeugt es bei Meerschweinchen und Hunden eine Pulsbeschleunigung wie beim Menschen. Als Substanz, die vielleicht geeignet erschien, die Tachykardie und auch den geringen Blutdruckabfall nach Aludrin auszugleichen, wählten wir für unsere erste orientierende Versuchsserie das Adrianol (m-Sympatol), das eine prompte und ausgiebige Blutdrucksteigerung im Gefolge[20, 76] und eine bradykarde Wirkung hat. Wir haben, zunächst noch an Katzen, das Verhältnis von Aludrin zu Adrianol zu ermitteln versucht, bei dem eine nennenswerte Senkung oder Steigerung des Blutdruckes nicht mehr eintritt, da Grund zu der Annahme besteht, daß die Tachykardie durch die Pressorezeptoren beeinflußt wird. Wir konnten feststellen, daß die blutdrucksenkende Wirkung des Aludrins auch in Kombinationen sehr stark ist und daß die 5—10fache Menge Adrianol erforderlich ist, um ein Absinken des Blutdruckes zu verhindern. Beide Substanzen entfalten ihre Wirkungen durch Angriff an der Peripherie, da die Blutdrucksteigerung nach Adrianol und die Senkung nach Aludrin auch nach funktioneller Ausschaltung des Karotissinus und nach Vagotomie auftritt. Die eine von ihnen, Adrianol, erregt zudem bei der Katze die sensiblen Herznerven, wie H. SCHAEFER durch Oszillographie der Nervenaktionsströme direkt nachwies (unveröffentlichte Beobachtung). Die Kompensation der Aludrintachykardie gelingt nun in der Tat durch Adrianol, jedoch nur für kurze Zeit nach der Injektion beider Substanzen; nach etwa 3—5 Min. ist die Adrianolwirkung verklungen und die Aludrintachykardie setzt sich wieder durch, da die zeitliche Wirkungsweise der Stoffe zu verschieden ist. Auch wir konnten hierbei feststellen, daß das Adrianol bezüglich seiner Kreislaufwirkung eine Substanz ist, die individuell dosiert werden muß und daher etwas schwierig zu handhaben ist[20, 41, 76]. In dieser

Versuchsserie gaben wir das Aludrin in Dosen von 0,01—0,15 mg/kg und Adrianol 0,02—0,2 mg/kg Körpergewicht; beide Substanzen zusammen haben eine deutliche Erhöhung von Schlag- und Minutenvolumen zur Folge. Bei höheren Adrianoldosierungen beobachteten wir im Ekg Veränderungen des S—T-Stückes, jedoch schienen diese Veränderungen weitgehend reversibel zu sein.

Aus den oben angeführten Gründen haben wir das Adrianol verlassen und den Ausgleich der Aludrintachykardie mit N_{14} versucht. Die folgende Versuchsreihe wurde an nichtnarkotisierten großen Hunden in der Weise durchgeführt, daß den Tieren die Substanzen einzeln und zusammen, intramuskulär und intravenös injiziert wurden, wobei Puls und Atmung gezählt und in kurzen Abständen Ekg aufgenommen wurden. Aludrin allein, in Mengen von 0,015 mg/kg gegeben, verursacht beim wachen Hunde eine Pulsbeschleunigung in Höhe von 220—240 Schlägen je Min., die zuweilen noch nach 4 Stunden nicht zurückgegangen war. Gaben wir die gleiche Dosis Aludrin zusammen mit 1,5 mg/kg N_{14}, intramuskulär oder intravenös, dann trat nur etwa 1 Min. lang nach der Injektion eine Tachykardie auf, die, wie wir uns später bei Versuchen am narkotisierten Tier überzeugen konnten, nicht allein durch das Trauma der Injektion (intramuskuläre Injektion ist offensichtlich schmerzhaft) bedingt war, sondern eine echte Aludrinwirkung ist. Diese Steigerung der Pulsfrequenz war nach unseren Beobachtungen aber unbedeutend (von 80 auf rund 100 Schläge je Min.); im Anschluß daran schlug das Herz wieder in der typischen arrhythmischen Weise, die wir vom Hund als Ruhepuls kennen. Auch sonst boten die Hunde nach der Injektion keinerlei Besonderheiten, lediglich war die Atmung merkbar vertieft und auch etwas frequenter, eine Feststellung, die wir immer wieder nach Aludrineinwirkung treffen konnten.

Diese Ergebnisse konnten anschließend durch Versuche an narkotisierten Hunden mit unserer fortlaufenden Registrierung von Blutdruck, Herzfrequenz, Atmung und Stromvolumen in einem größeren Gefäß im wesentlichen bestätigt werden, wenn es auch hier meist rund 2 Min. dauerte, bis die alte Herzfrequenz wieder erreicht worden war. Meist nach rund 3 Min. kehrte, wenn der Kreislauf durch Narkose oder lange Versuchsdauer noch nicht geschädigt war, die typische Arryhthmie des Hundeherzens wieder; wie wir uns durch Ekg-Aufnahmen überzeugten, waren keine Anzeichen einer Herzschädigung vorhanden. Die Blutdruckkurve verlief wesentlich ausgeglichener und zeigte nur für 1—2 Min. eine geringe Erniedrigung des diastolischen Druckes bei praktisch unbeeinflußtem systolischem Blutdruck. Da wir diese Ergebnisse auch bei intravenöser Injektion erzielten, scheiden Resorptionsverzögerungen des Aludrins als Erklärungsversuch[38] aus.

III. Besprechung der Ergebnisse.

1.

Meist ist der erste Stoff, mit dem ein Versuchstier in Berührung kommt, das Narkotikum; jedoch sind aber *Narkoseeinflüsse* auf Kreislauf und Kreislaufreflexe erst in den letzten Jahren eingehender untersucht worden. Der Grund liegt in den Schwierigkeiten methodischer Art, praktisch bietet nur das Verfahren der Blutdruck- und Pulswellenanalyse, das von BROEMSER und RANKE[9] und von WEZLER und BÖGER[84] ausgearbeitet worden ist, die Möglichkeiten, Aufschluß über die Kreislaufgrößen und ihre Änderungen am nichtnarkotisierten und nichtoperierten Tier zu gewinnen. Durch die Arbeiten von WEZLER und THAUER[85] und von DUESBERG und SCHROEDER[17] wissen wir, daß die Narkotika (untersucht wurden Evipan, Morphin-Pernokton, Chloralose, Urethan), die Kreislaufgrößen in typischer Weise verändern. Außer dem Schnellerwerden der Pulsfrequenz ist es besonders das Ansteigen des peripheren Gefäßwiderstandes, das sich meist etwa 30 Min. nach Narkoseeinleitung einstellt und von DUESBERG und SCHROEDER als beginnende Zentralisation des Kreislaufes bezeichnet worden ist. Die genannten Veränderungen sind am ausgeprägtesten bei den Narkotika der Barbitursäurereihe, bei denen auch die Kreislauf-Atmungsreflexe, z. B. die respiratorische Arrhythmie, öfters aufgehoben sind; doch darf man aus ihrem Vorhandensein, wie meist bei der Chloralose-Narkose, nicht schließen, daß die Kreislaufregulationen völlig unbeeinflußt seien. Denn auch für diese Narkoseart haben WEZLER und THAUER[85] Veränderungen der gesamten Kreislaufgrößen feststellen müssen, insbesondere die zunehmende Vergrößerung des peripheren Gefäßwiderstandes, die Zunahme der Pulswellengeschwindigkeit und Anstieg des diastolischen Blutdruckes. Doch erkennen die letztgenannten Autoren an, daß bei dieser Narkose die Kreislaufbeeinträchtigung relativ am geringsten ist und die Reflexerregbarkeit sogar kaum Veränderungen erkennen läßt. Die Art und Weise, wie die Narkotika die Wirkung kreislaufaktiver Stoffe und umgekehrt kreislaufaktive Stoffe die Narkoseeinflüsse verändern, haben DUESBERG und SCHROEDER überzeugend dargetan. Auch bei unseren Versuchen konnten wir beim Vergleich der Wirkungen am narkotisierten und wachen Tier feststellen, daß durch die Morphin-Chloralose-Narkose die Wirkungsdauer und Intensität der verabfolgten Pharmaka vermindert wurde. Der Narkoseeinfluß schien uns am deutlichsten bei der Verkürzung der Aludrintachykardie hervorzutreten.

Da die Methode von WEZLER und BÖGER für unsere Kreislaufbetrachtungen jedoch zu summarisch ist und keinen Aufschluß über Durchblutungsänderungen in einzelnen Gefäßgebieten sowie über die

Mechanismen der Presso- und Chemorezeption, auf die noch einzugehen sein wird, erbringt, haben wir unsere Untersuchungen am narkotisierten und operierten Tier in der beschriebenen Weise durchgeführt. Indem wir uns der Grenzen und Fehlerquellen dieser Methode bewußt sind, glauben wir bei der Analyse unserer Ergebnisse *qualitativ* keine falschen Schlüsse gezogen zu haben.

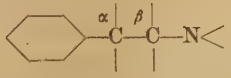
2.

Eine Besprechung der Wirkungsweise kreislaufaktiver Substanzen wäre unvollständig, wenn man nicht nach Zusammenhängen zwischen *chemischer Konstitution* und *pharmakologischer Wirkung* suchen würde in der Absicht, für charakteristische Reaktionsweisen des Herzens oder der Gefäße bestimmte Atome oder Atomgruppen der entsprechenden Sympathikomimetika verantwortlich machen zu können. Diese Versuche setzten in der Tat bald nach Klärung der Strukturformel des Adrenalins ein und Barger und Dale [5] gaben bereits in ihrer viel zitierten Arbeit 1910/11 eine Reihe von Grundprinzipien für die chemische Zusammensetzung, die für die blutdrucksteigernde Wirkung dieser Pharmaka von Wichtigkeit sind. Seitdem sind ihre Untersuchungen durch wesentliche Beiträge ergänzt und erweitert worden; es hat sich aber immer wieder gezeigt, daß es nicht möglich ist, ein grundsätzliches Wirkungsschema aufzubauen. Vor allem zeigt sich beim Vergleich der Strukturformeln, daß es weder am Benzolkern noch an der aliphatischen Seitenkette des Adrenalingrundskeletes eine Atomgruppe gibt, die zumindest bei den blutdrucksteigernden Substanzen konstant vorhanden wäre. Eine zweite Erschwerung ist dadurch gegeben, daß es unter den Stoffen, die blutdruckwirksam sind und unter dem Begriff der Sympathikomimetika zusammengefaßt werden, zwei Gruppen gibt, die sich durch den Ort ihrer Wirkungsentfaltung unterscheiden: die erstere, die Sympathikomimetika im engeren Sinne, von denen anzunehmen ist, daß sie den Übertragungschemismus zwischen sympathischer Nervenendigung und Erfolgsorgan beeinflussen; für sie wird meist eine blutzuckererhöhende Wirkung als charakteristisch angesehen [67] (*neurotrope* Wirkung); die zweite Gruppe, die am sympathischen Erfolgsorgan selbst angreift (*muskulotrope* Wirkung) und die die blutzuckererhöhende Wirkung nicht in diesem Maße besitzt wie z. B. das Ephedrin. Für viele Sympathikuswirkstoffe ist der Angriffsort nicht bekannt, wodurch der Versuch, ein Wirkungsschema abzuleiten, noch erschwert wird.

Wir haben im Nachfolgenden Literaturangaben zusammengestellt, die sich zum Thema: Chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung der Sympathikomimetika finden und die für bestimmte chemisch definierte Untergruppen als Regeln gelten können. Es sei aber betont, daß sich immer wieder *Ausnahmen* einstellen können und daß gelegentlich Atomgruppen, denen man zunächst keinen

Wert für die pharmakologische Wirkung beigelegt hatte, unter Umständen eine ausschlaggebende Bedeutung erlangen können.

Für das *Adrenalingrundskelet*



haben sich folgende Erfahrungssätze ableiten lassen:

a) Veränderungen am Benzolkern. Die Substitution einer Hydroxylgruppe in o-Stellung zeigt nur einen geringen Einfluß auf die Blutdrucksteigerung, dagegen bewirkt die Substitution in p-Stellung eine wesentliche Verstärkung der Blutdrucksteigerung. So ist z. B. Tyramin 3—5mal so wirksam wie Phenyläthylamin, Paredrin ist 2—3mal so stark wirksam wie Benzedrin. Die Dauer der Blutdrucksteigerung wird anscheinend durch die p-Stellung verkürzt, Tyramin hat nur eine $^1/_2$mal so lange Wirkungsdauer wie Phenyläthylamin. Die Substitution einer Hydroxylgruppe in m-Stellung wirkt noch wesentlich stärker auf die Blutdrucksteigerung als die p-Stellung. So ist z. B. das Adrianol 12—20mal stärker pressorisch wirksam als das Sympatol und ungefähr 160mal stärker wirksam als sein Grundkörper, das β-Phenyläthanolamin, jedoch scheint die Giftigkeit bei Substitution in m-Stellung zuzunehmen[39, 41, 74, 75, 81]. Substituiert man 2 Hydroxylgruppen am Benzolkern in 3-4-Stellung, so erhält man wesentlich stärkere Blutdrucksteigerungen als bei denen der m-oxy-Verbindungen. So hat Adrenalin eine 800mal so starke Blutdruckwirkung als sein Grundkörper, das β-Phenyläthanolamin. Ebenfalls sehr stark wirksam ist das Epinin, welches an $^1/_{12}$ der Adrenalinwirkung herankommt, das Dioxynorephedrin, das $^1/_{50}$ der Adrenalinwirkung und das Corbasil, das $^1/_{10}$—$^1/_2$ der Adrenalinwirkung erreicht. Diese Dioxyverbindungen sind jedoch leichter im Organismus zerstörbar als die Monoxyverbindungen. Daher erklärt sich auch die sehr geringe Wirkungsdauer und die sehr geringe orale Wirksamkeit. Gemeinsam ist ihnen, daß sie alle sehr giftig sind. Die 3-4-Stellung der OH-Gruppen scheint die optimale zu sein, eine Feststellung, die schon BARGER und DALE[5] 1910 trafen.

Die Adrenalinabkömmlinge mit 3 OH-Gruppen verlieren, am Benzolkern substituiert, meist ihren sympathikomimetischen Charakter und ähneln mehr dem Nikotin. Die mydriatische Wirkung der phenyl-äthyl-Grundskelete wird durch Substitution von Hydroxylgruppen am Benzolkern abgeschwächt. Die broncholytische Wirkung der Phenyläthylamine wird durch den Brenzkatechinkern, also durch die 3-4-Dioxyphenylverbindung verstärkt, so zeigen z. B. Arterenol, Adrenalin, Isopropyladrenalin (Aludrin) und 3-4-Dioxyephedrin eine starke broncholytische Wirksamkeit[41, 37, 66, 67, 51, 77].

Für die echte sympathikomimetische Wirksamkeit scheint es im allgemeinen erforderlich zu sein, daß die Hydroxylgruppen frei sind[14, 26]. Eine Methoxygruppe in m- oder p-Stellung verleiht dem Grundkörper eine weit geringere Kreislaufwirkung als eine Hydroxylgruppe, so ist z. B. das p-Methoxyephedrin in seiner Kreislaufwirkung mehr dem Ephedrin ähnlich und nicht dem p-Oxyephedrin. Auch 2 Methoxygruppen in 3-4-Stellung geben dem Körper eine recht geringe Kreislaufwirksamkeit[19]. Methoxygruppen in m- oder p-Stellung sowie Methylendioxygruppen in 3-4-Stellung verleihen der Grundsubstanz meist eine zentralerregende Wirkung, die bei der 3-4-Methylendioxyverbindung besonders stark ausgeprägt ist. Ein Beispiel hierfür ist das 3-4-Methylendioxyphenyl-β-isopropylamin. Diese zentralerregende Wirkung ist dagegen sehr abgeschwächt in den 3-4-Dimethoxyverbindungen[19, 32]. Trimethoxyverbindungen, zumal in der Anordnung 3-4-5-, besitzen meist eine halluzinatorische oder euphorisierende Wirkung wie z. B. das Mezkalin. Eine Alkylierung am Benzolkern setzt die Kreislauf-

wirkung herab oder zeigt nur geringe Beeinflussung. Über die Aminierung am Benzolkern lassen sich keine festen Regeln aufstellen, doch scheint ihr Einfluß im allgemeinen recht gering zu sein[82].

b) Veränderungen der Seitenkette. Substituiert man am α-Kohlenstoffatom eine Hydroxylgruppe, so erzielt man im allgemeinen eine Verstärkung der Kreislaufwirksamkeit. Die broncholytische Wirkung wird ebenfalls stark erhöht, so z. B. beim Isopropyladrenalin, beim Isopropylepinin und ebenfalls beim Arterenol-Epinin[51]. Im allgemeinen steigert eine OH-Gruppe am Benzolkern den Blutdruck mehr als am α-Kohlenstoffatom. So ist z. B. das Veritol 3—10mal so stark wirksam wie das Ephedrin[18, 86]. Substituiert man am Benzolkern und am α-Kohlenstoffatom je eine Hydroxylgruppe, so erhält man meist die gleiche pressorische Wirkung wie vorher, aber eine verkürzte Wirkungsdauer[39, 48, 66, 67]. Zwei Hydroxylgruppen am Benzolkern und eine in der Seitenkette scheinen die optimale Wirkung hervorzubringen[5].

Über die *Methylierung am β-Kohlenstoffatom*, also die Verwandlung der Äthylamine in Isopropylamine lassen sich folgende Regeln aufstellen: Die β-Phenylisopropylamine werden im Organismus anscheinend von den Aminooxydasen nicht so leicht angegriffen wie die β-Phenylamine, so z. B. das Benzedrin gegenüber dem Phenyläthylamin und das Ephedrin gegenüber dem β-Phenyläthanolamin. Diese Substanzen zeichnen sich durch längere Wirkungsdauer aus und sind auch oral besser wirksam[26, 28]. Dagegen ist die Stärke der Kreislaufwirkung nicht so groß wie bei der Gruppe der Äthylamine. Die am β-Kohlenstoffatom substituierten Körper weisen sämtlich die Eigenschaft der Tachyphylaxie auf, die den Phenyläthylaminen völlig fehlt[40]. Die am β-Kohlenstoffatom substituierten Körper haben zum Teil eine zentralerregende Wirkung, die besonders beim Benzedrin hervortritt[28]. Diese Wirkung wird durch OH-Gruppen am Benzolkern oder der Seitenkette wieder stark herabgesetzt[2]. Die Verlängerung der Kohlenstoffkette am β-Kohlenstoffatom bewirkt in der Regel eine Umkehr der Blutdruckwirkung, eine Zunahme der Giftigkeit und der herzlähmenden Wirkung. Die broncholytische Wirkung nimmt ebenfalls mit der Verlängerung ab[35].

Substitution am N-Atom. Die primären Amine (Nor-Verbindungen) sind stärker pressorisch wirksam als die entsprechenden sekundären oder tertiären Amine. So ist z. B. das Arterenol $1^1/_2$mal stärker blutdrucksteigernd als Adrenalin. Nor-Verbindungen sind Corbasil, Icoral B, Benzedrin, Paredrin, Propadrin und Pulsoton. Die primären Amine besitzen die stärkste mydriatische Wirkung, und zwar ist das Benzedrin der aus dieser Gruppe am stärksten wirksame Körper[78]. Die sekundären Amine (Methylamine) haben etwas geringere Kreislaufwirksamkeit als die Nor-Verbindungen, die aber für praktische Zwecke immer ausreichend ist. In dieser Gruppe stehen die bekannten Kreislaufmittel Adrenalin, Sympatol, Adrianol (m-Sympatol), Suprifen, Veritol und das Ephedrin. Mit steigender Länge der Kette am N-Atom nimmt die Blutdruckwirkung ab, so daß schließlich sogar eine Blutdrucksenkung resultiert. Mit steigernder Alkylierung nimmt die Dauer der Wirkung zu, ebenso auch die orale Wirksamkeit. Eine Allylierung am N-Atom scheint regelmäßig mit einer Umkehr sämtlicher Wirkungen des Grundkörpers verbunden zu sein[8]. Die broncholytische Wirksamkeit wird durch 1—3 Kohlenstoffatom (Methylierung, Äthylierung und besonders Isopropylierung) am Stickstoffatom in der Adrianol-, Adrenalin- und Sympatolreihe verstärkt, jedoch gelten diese Beziehungen nicht für die Epininreihe[37]. Die tertiären Amine zeigen eine geringere Kreislaufwirkung als die sekundären Amine, so besitzt das Metadren nur noch $^1/_{30}$—$^1/_{50}$ der Blutdruckwirksamkeit des Adrenalins[13]. Zugleich verschiebt sich bei den tertiären Aminen der Wirkungstyp vom Adrenalin weg und zum Nikotin hin. Der typische Vertreter hierfür ist das Hordenin (Dimethyl-

tyramin), bei dem die Blutdrucksteigerung bereits durch zwei Komponenten zustande kommt, einmal durch einen sympathikomimetischen Wirkungsmechanismus und zweitens durch eine nikotinähnliche zentrale Ganglienerregung. Ein Teil dieser tertiären Amine zeigt eine gute broncholytische Wirkung, die in der Praxis auch ausgenützt wird. Als Beispiele mögen dienen: das Dimethyl-nor-ephedrin (broncholytische Komponente des Siran), das Ephedrin und Diäthyl-amino-äthylephedrin (Isalon). Die quarternären Ammoniumsalze scheinen den Grundkörpern eine nikotinähnliche Wirkung zu verleihen, anscheinend verändert hier das 5-wertige N den Wirkungstyp in Richtung zum Cholin.

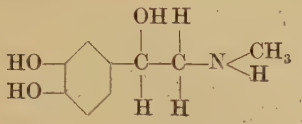
Für die von uns untersuchten *adrenalinähnlichen Thiosulfonsäuren* können wir feststellen, daß eine SSO_3H-Gruppe, am α-Kohlenstoffatom substituiert, die Kreislaufwirkung des Adrenalins und des 3-4-Diazetyladrenalins herabsetzt und die Wirkungsdauer wesentlich verlängert. Beim Aludrin und 3-4-Diazetylaludrin bewirkt die gleiche Substitution eine Blutdrucksenkung in erster Phase, an die sich eine Blutdrucksteigerung anschließt. Diazetylgruppen an Stelle der 3-4-Hydroxylgruppen des Benzolkernes verlängern die Wirkungsdauer der Adrenalin- und Aludrinthiosulfonsäuren.

3.

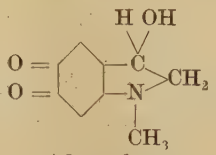
Unsere Kenntnisse über die Adrenalinwirkung würden eine wesentliche Ergänzung erfahren, wenn wir über die Aufbau- und Abbauzwischenstufen des Adrenalins und ihre eventuelle Kreislaufwirkung gesicherte Grundlagen besäßen. Das ist aber nach dem derzeitigen Stand des Wissens nicht der Fall, und wir sind auch hier in wesentlichen Punkten nur auf Vermutungen angewiesen. So wird als Grundsubstanz für die Adrenalinsynthese im Organismus meist das Tyrosin angenommen, das über die Zwischenstufen Dioxyphenylalanin (dopa), N-Methyldopa, N-Methyldopachinon, β-(3-4-dioxyphenyl)-N-Methylserin über das Adrenalon zu Adrenalin führt. Der Ort dieser Methylierung und oxydativen Umwandlung ist nicht sicher bekannt, jedenfalls konnte bei Durchströmung der Nebennieren mit Dioxyphenylalanin oder Dioxyphenyl-N-Methylalanin keine Veränderung an diesen Stoffen oder gar die Bildung von Adrenalin nachgewiesen werden. Es scheint lediglich festzustehen, daß das β-(3-4-dioxyphenyl)-alanin und damit auch das Tyrosin zur Nebenniere in Beziehung steht[25].

Der Abbau des Adrenalins kann anscheinend in verschiedener Weise erfolgen. Zunächst scheint das Adrenalin in Adrenochrom überführt zu werden, und zwar spielen hier Fermente eine wichtige Rolle, unter denen besonders die Dehydrogenasen der Milch- und Apfelsäure des Muskels von Bedeutung sind. Ebenso ist hier eine Katechinoxydase und das Indophenoloxydase-Zytochromsystem zu nennen, das in fast allen tierischen Geweben vorhanden ist[24]. Hierdurch würde sehr gut die Tatsache erklärt werden, daß das Adrenalin im arbeitenden Muskel, in dem diese Fermente verstärkt wirksam sind, keine vasokonstriktorische Wirkung ausübt[57, 47], wie wir dies vom ruhenden Muskel her kennen. In diesem Falle würde eine verhältnismäßig

einfache Koppelung des Adrenalinabbaues mit dem Zellstoffwechsel bestehen.

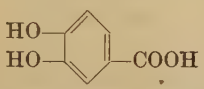


Adrenalin



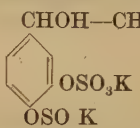
Adrenochrom

Eine zweite Gruppe von Fermenten bewirkt eine Oxydation der Adrenalinseitenkette an der Aminogruppe selbst [52]. Dieser Abbau erfolgt durch Aminooxydasen, aus dem Benzolkern entsteht hierbei die Protokatechusäure [7].



Diese letzteren Fermente scheinen jedoch im Organismus nicht so verbreitet zu sein, ihr Vorkommen scheint sich auf Leber, Niere, Darm und Gehirn zu beschränken.[7]

Eine dritte Abbaumöglichkeit hat Richter schließlich in Selbstversuchen dargetan und gezeigt, daß Adrenalin, peroral verabfolgt, als eine physiologisch unwirksame gepaarte Schwefelverbindung im Urin erscheint [58].



Die Phenole, die im Organismus selbst eine Blutdrucksenkung bewirken sollen [46], werden ebenfalls als gepaarte Schwefelsäureverbindung ausgeschieden; es ist nicht anzunehmen, daß die Phenolgrundskelete physiologischerweise im Organismus in einer Konzentration vorkommen, die eine Blutdrucksenkung hervorrufen würde *. Zur Frage der Kreislaufwirkung der Adrenalinabbauprodukte ist wohl noch zu beachten, daß über die Dauer des Abbauvorganges und die dadurch bedingte Verweildauer eventuell kreislaufaktiver Zwischenstufen nichts bekannt ist; ein Einwand, der ebenfalls für die Zwischenprodukte der Adrenalinsynthese gilt. Jedenfalls möchten wir die oft festzustellende Blutdrucksenkung nach Adrenalinanwendung nicht auf das Auftreten von Abbauprodukten beziehen, sondern weiter unten eine neue Erklärung für diese Erscheinung geben.

4.

Nach den Untersuchungen von O. Loewi [42, 43, 44] stellen wir uns im normalen physiologischen Geschehen die Übertragungsweise im parasympathischen Nervensystem so vor, daß durch die Nervenaktion an den Nervenendigungen eine chemische Substanz, hier das

* Siehe dazu: Jung, F. u. P. Witt: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 437 (1947) ferner: Baumann, E. u. Herter: Z. physiol. Chem. **1**, 244 (1877). — Gies, Th.: Arch. exper. Path. (D.) **12**, 401 (1880). — Gibbs u. Hare: Arch. Physiol. **1890**, 352. — Turtschaninow, P.: Arch. exper. Path. (D.) **34**, 208 (1894). — Barger, G. u. H. H. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 (1910). — Pilcher, J. D. u. T. Sollmann: J. Pharmacol. (Amer.) **6**, 377 (1915).

Azetylcholin, frei wird, die die eigentliche Erregung auf das Erfolgsorgan überträgt. Unsere Einwirkungsmöglichkeiten auf das parasympathische Erfolgsorgan befinden sich also an dieser Stelle der chemischen Erregungsübertragung, da eine Einwirkung auf die Reizausbreitung im Nerven selbst oder eine direkte Einwirkung auf das Erfolgsorgan unter Umgehung der spezifischen Rezeptoren in den meisten Fällen nicht möglich ist. So können wir z. B. an Stelle eines parasympathischen Reizes mit der Applikation von Azetylcholin als der typischen Überträgersubstanz den gleichen physiologischen Effekt hervorrufen und durch Eserin den Abbau des wirksam gewordenen Azetylcholins verhindern, also in gleicher Weise erregungssteigernd wirken. Diese Modellvorstellungen sind auch auf das sympathische Nervensystem übertragen worden, wenn auch hier der Übertragungsmodus nicht so relativ gesichert festzustehen scheint wie bei der vagalen Reizübertragung. Nach BACQ[4] hat man sich die sympathische Erregungsübertragung so vorzustellen, daß gleichfalls ein Überträgerstoff aus den sympathischen Nervenendigungen frei wird, hier das sog. Sympathin, welches entweder aus dem im Blute kreisenden Adrenalin oder aus einer Vorstufe desselben gebildet wird. Das Sympathin von BACQ scheint eine große Ähnlichkeit mit Adrenalin zu haben, vielleicht ist es auch mit ihm identisch. Der Abbau des bei der sympathischen Erregung frei werdenden lokalgebildeten Adrenalins muß jedenfalls sehr schnell erfolgen können, damit in einem außerordentlich kurzen Zeitintervall die nächstfolgende Erregung ein ansprechendes, also nicht mehr in Erregung befindliches oder blockiertes Erfolgsorgan vorfindet. Andererseits scheint im Gegensatz zum Adrenalin oder dem adrenergischen Überträgerprinzip, welches lokal freigesetzt und wieder abgebaut wird, im Blut stets Adrenalin vorhanden zu sein, dessen Konzentration von dem Grad der Ausschüttung aus dem Nebennierenmark abhängt. Daß das Adrenalin im Blut im Gegensatz zu seiner sonstigen leichten Oxydierbarkeit relativ stabil ist, erklären manche Autoren mit einem Redoxsystem, an dem das Vitamin C beteiligt sein soll [29, 61]. Vielleicht sind bezüglich der verschiedenen Abbaugeschwindigkeiten des Adrenalins bzw. seiner Rücküberführung in eine physiologisch unwirksame Vorstufe Analogieschlüsse zur Kinetik der Cholinesterase erlaubt, die, wie H. SCHAEFER [65] kürzlich angegeben hat, im Blutserum wesentlich geringer ist als an den geformten Strukturen, z. B. der Erythrozyten; eine Tatsache, die wohl allgemein mit der aktivierenden Wirkung von Oberflächen zusammenhängt.

5.

Überblickt man die ständig wachsende Reihe der Sympathikuswirkstoffe, die jetzt die Zahl von 500 untersuchten kreislaufwirksamen Substanzen überschritten haben dürfte, so findet man von

den Nor-Adrenalinverbindungen als den am stärksten wirksamen Stoffen alle Übergänge zu pressorisch wenig wirksamen, unwirksamen, blutdrucksenkenden und sympathikolytisch wirkenden Substanzen. Man darf sich aber diese Übergänge nicht kontinuierlich denken, im Gegenteil finden sich Körper, wie z. B. das Dioxyephedrin, das chemisch dem Adrenalin so nahe steht und das in so ausgesprochener Weise den Blutdruck senkt und erst bei hoher Dosierung den Blutdruck steigert [67]. Bemerkenswert ist ferner die chemische Verwandtschaft der Sympathikolytika mit den Sympathikomimetika. Im allgemeinen scheinen die Sympathikomimetika kleinere Moleküle zu haben und auch stabiler zu sein, verglichen mit den Sympathikolytika. Die letzteren sind auch meist am Stickstoffatom stark substituiert und haben keine freien OH-Gruppen, weisen dafür aber an Stelle der Seitenkette oder an ihr neue Ringsysteme auf [10]. Die weitgehende Analogie zwischen den chemischen Strukturen der Sympathikomimetika und der Sympathikolytika weist darauf hin, daß beide Gruppen an den Erfolgsorganen auf gleiche Rezeptoren wirken, die spezifisch mit diesen Körpern reagieren. So sollen die Sympathikomimetika und die Lokalanästhetika die Aminooxydase blockieren und so die Wirkung des physiologisch gebildeten Adrenalins steigern [7, 53]. So stellen sich Gaddum und Kwiatkowski [22] vor, daß eine Substanz, wie z. B. das Ephedrin, drei Wirkungsmöglichkeiten habe, daß es nämlich erstens als Sympathikomimetikum direkt auf die sympathischen Rezeptoren des Erfolgsorganes einwirken könnte, zweitens als sensibilisierendes Gift, indem es sich an dem Enzym festsetzt, das das Adrenalin abbauen könnte, und drittens als sympathikolytisches Gift, das mit den sympathischen Rezeptoren des Erfolgsorganes eine schwer reversible Bindung eingeht und so das Adrenalin nicht zur Wirkung kommen läßt*. Die Wirkung der Sympathikolytika muß man sich also in einer Blockierung der spezifischen Rezeptoren der Erfolgsorgane vorstellen.

Daß man eine scharfe Korrespondenz zwischen Wirkstoff und Rezeptor annehmen muß, geht auch daraus hervor, daß die Stereoisomeren so außerordentlich starke Wirkungsunterschiede zeigen. Es ist sehr auffallend, daß die l-Form 100—1200mal so stark wirksam ist als die d-Form (die unterschiedlichen Zahlenangaben rühren zum Teil daher, daß die Untersuchungen nicht mit streng getrennten rechts- bzw. linksdrehenden Formen durchgeführt worden sind, sondern besonders bei den älteren Untersuchungen meist Gemische vorgelegen haben dürften).

6.

An Hand der oben angeführten Vorstellungen über den Wirkungsmechanismus der Sympathikuswirkstoffe ist man durchaus in der Lage, einen großen Teil ihrer Wirkungen im Organismus zu erklären.

* Heim, F.: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 520 (1947).

Auch wenn man unter der Tachyphylaxie nur eine Wirkungsabschwächung verstehen will, reichen die bisherigen Vorstellungen aus. Dagegen versagen sie bei der Erklärung der tachyphylaktischen Wirkungsumkehr am Blutdruck, wie z. B. nach Ephedringaben und besonders deutlich bei der Erklärung der Blutdrucksenkung nach Adrenalin am ergotaminvergifteten Tier. Dementsprechend sind die Erklärungsversuche der tachyphylaktischen Wirkungsumkehr recht unbefriedigend geblieben [59, 83]. Ohne die Annahme eines doppelten Angriffspunktes, erstens an sympathisch innervierten Vasokonstriktoren, die z. B. beim Ephedrin durch rasch aufeinander folgende Gaben zunehmend blockiert werden, und zweitens durch Auslösen vasodilatatorischer Mechanismen oder durch direkten Angriff an den Gefäßen selbst, der nicht durch das Ephedrin versperrt wird, kommt man nicht aus.

Ebenso ist die im Jahre 1905 von Dale [15] beschriebene sog. *Adrenalinumkehr nach Ergotamin* bisher ohne befriedigende Erklärung geblieben. Diese Blutdrucksenkung nach Adrenalin, besonders deutlich beim ergotaminvergifteten Fleischfresser, die sich auch nach Vorbehandlung mit Yohimbin [54] erzielen läßt, wird oft auch ohne vorherige Lähmung der sympathischen Vasokonstriktoren beobachtet, und zwar im Anschluß an die pressorische Phase des Adrenalins und ferner auch beim Fleischfresser nach rasch aufeinander folgenden Injektionen kleinster Adrenalindosen [12]. Durch das letztgenannte Vorgehen läßt sich gelegentlich der Blutdruck treppenförmig um 20 bis 35 mm Hg senken. Dale selbst gibt für das Phänomen der Adrenalinumkehr am Blutdruck nach Ergotaminisierung die Erklärung, daß durch das Ergotamin alle fördernden sympathischen Nerven gelähmt würden, während alle hemmenden sympathischen Fasern funktionsfähig blieben. Auch die Erklärungsversuche anderer Autoren arbeiten mit solchen Ausnahmen, daß von der ursprünglichen Gesetzmäßigkeit des sympathischen und parasympathischen Nervensystems wesentliche Teile ausfallen. Welchen Erklärungsversuch man auch immer adoptieren wird, so steht man immer vor der Tatsache, daß das bisherige Schema von sympathischen und parasympathischen Nervensystem nicht ausreicht. Wir möchten hier grundsätzlich zu diesem Problem und zur Frage der sog. Amphotropie des Adrenalins bemerken, daß Fasern die durch Adrenalin erregt, deren Erfolgsorgane aber durch Ergotamin nicht gelähmt werden, keine sympathischen Nerven sind und möchten hier nachdrücklich betonen, daß diese Nerven ein *System sui generis* bilden. Denn die Bezeichnung: sympathischer oder parasympathischer Nerv möchten wir so verstanden wissen, daß wir unter einem sympathischen bzw. parasympathischen Nerven diejenige Faser verstehen wollen, die in ihrer Endigung am Erfolgsorgan adrenergisch bzw.

cholinergisch ist und deren zugehöriges Erfolgsorgan durch Ergotamin bzw. Atropin lähmbar ist. Für diese unsere Ansicht, daß es eine Reaktionsweise des Organismus gibt, für die das bisherige Schema von Sympathikus und Parasympathikus nicht mehr zutrifft, sprechen von den vielen Versuchen, die zur Erklärung der Adrenalin-Blutdruckumkehrwirkung unternommen worden sind, besonders die Versuche von Bülbring und Burn[11], die bei elektrischer Reizung des Grenzstrangs des Sympathikus eine Vasodilatation in den unteren Extremitäten der Katze fanden, die weder durch Ergotoxin noch durch Atropin oder Eserin beeinflußt werden konnte. Bei diesen Versuchen, denen Gaddum[23] eine besondere Bedeutung beimißt, ist sogar für die Vasodilatation ein cholinergischer Übertragungsmodus wahrscheinlich gemacht worden, der bemerkenswerterweise durch Atropin nicht beeinflußt wurde. Es hat also ganz den Anschein, als ob für das parasympathische Nervensystem analoge Ausnahmen für die Lähmung der Erregungsübertragung bestünden wie für das sympathische Nervensystem. Daß es zu diesem Nervensystem, das so offensichtlich eine pharmakologische *Sonderstellung* einnimmt, einen Zugang gibt, hoffen wir im nächsten Abschnitt zeigen zu können.

7.

Einen Schlüssel zum Verständnis der Blutdrucksenkung des Adrenalins bilden unseres Erachtens die Versuche, die F. Palme[49,50] in den Jahren 1934/35 an unserem Institut (damaliger Leiter Prof. Eb. Koch) ausgeführt hat. Von morphologischen Gesichtspunkten ausgehend hat Palme vermutet, daß der paraganglionäre Anteil des Karotissinusgebietes in seinen chromierbaren Zellen Adrenalin oder einen adrenergischen Wirkstoff bilden könnte. Er betupfte die freigelegte Sinuswand mit Adrenalin 1:1000—1:1000000 und erhielt bei Kaninchen maximale Blutdrucksenkungen, die bis zu 30 Min. anhielten. Um den sympathischen Ast, der in je nach Tierart verschiedener Stärke zum Karotissinus zieht, auszuschalten, betupfte er das Karotissinusgebiet mit Ergotamin und erhielt auch dann nach Betupfen mit Adrenalin eine maximale Blutdrucksenkung. Es handelte sich also beim Karotissinusnerven um einen *afferenten, nicht sympathischen, adrenalinsensiblen Nerven*, der, durch Adrenalin lokal erregt, eine Blutdrucksenkung veranlaßt und der durch die bekannten Sympathikolytika nicht gelähmt werden kann.

Aus diesen Versuchen haben wir die Folgerung gezogen und das folgende Experiment ausgeführt (für die Hilfe bei der Ausführung der Operationen bin ich Herrn Prof. Dr. Palme zu Dank verpflichtet): Bei der Katze wurden, in Chloralose-Urethannarkose, die Aortennerven mit dem Halssympathikus und den Nn. laryngei superiores beiderseits

durchtrennt. Nach Ergotaminvergiftung des Tieres stellte sich nach Adrenalininjektion die bekannte Blutdrucksenkung ein (Abb. 9). *Durchtrennt man nun beide Karotissinusnerven (Abschnürung), so tritt die Blutdrucksenkung nach Adrenalininjektion nicht mehr ein* (Abb. 10). Nach diesen Versuchen, die noch an einem größeren Tiermaterial zu bestätigen sein werden, erscheint der Beweis erbracht zu sein, daß es im Gebiet der Pressorezeptoren *Chemorezeptoren für Adrenalin* gibt, durch deren Erregung vasodilatatorische Mechanismen, die durch Ergotamin ebenfalls nicht lähmbar sind, zur Auslösung kommen.

Mit aller Zurückhaltung, die teleologischen Gedankengängen gegenüber stets angebracht ist, kann diese chemorezeptorische Reaktion als eine Gegenregulation des Organismus gegen Adrenalinkonzentrationen gedeutet werden, die vielleicht nach plötzlicher Ausschüttung des Nebennierenblutes in den Kreislauf den Blutdruck auf eine für das Herz schädigende Höhe treiben würde. Wir können die Karotissinusregion und die homologen Zonen als einen Teil eines entwicklungsgeschichtlich jungen Reflex- und Regulationssystems ansehen, das sich, bei den Reptilien beginnend, mit der Tierreihe fortschreitend weiter ausbildet [50] und Atmung und Kreislauf steuernde Aufgaben hat. Durch die Untersuchungen HEYMANS [31] sind die Chemorezeptoren als Regulatoren der Atmung bekannt; als Ergänzung zur reflektorischen Selbststeuerung des Kreislaufs [36] durch den Blutdruck als bisher einzigen adäquaten Reiz käme noch die chemische Gegenregulation durch das Adrenalin selbst hinzu. Die Frage erscheint auch nicht unberechtigt, ob nicht ein Teil der Erregung der Pressorezeptoren auf dem Wege lokal gebildeten Adrenalins, das im Rhythmus größerer Blutdruckschwankungen gebildet und ausgeschüttet wird (wahrscheinliche Funktion der chromierbaren Zellen), zustande kommt. Der größte Teil der pressorezeptorischen Nervenendigungen wird nach ihrer Lokalisation in der Media der A. carotis wohl direkt durch mechanische Kräfte erregt werden; ein anderer Teil dieser Nervenendigungen liegt jedoch in der Nähe von Zellen, die zum Teil chromierbar sind und vielleicht eine adrenalinsekretorische Funktion haben können. Für die Wahrscheinlichkeit dieser Überlegungen spricht auch, daß der sympathische Nerv, der zum Karotissinus zieht, sich in der Nähe der Sinusnervenendigungen oder der Zellen, für die eine sekretorische Funktion angenommen werden kann, aufsplittert. Für ihn ist durch die Ergotinlähmbarkeit [50] der sympathische Charakter sichergestellt; es kann angenommen werden, daß er entsprechend seiner Tätigkeit, die vielleicht mit dem Tonus im sympathischen Nervensystem parallel geht, lokal aus seinen Nervenendigungen Adrenalin oder den adrenergischen Wirkstoff freisetzt, und sich seinerseits an der Blutdruckregulation im Sinne einer Senkung beteiligt. Um ein elektrisches Modell zu

gebrauchen, würde der Karotissinus einer Elektronenröhre entsprechen, in der ein Gitter durch den Blutdruck (mechanische Komponente, bisher einziger adäquater Reiz), ein zweites Gitter durch die Adrenalinkonzentration des Blutes (zweiter adäquater Reiz für den Sinusnerven) gesteuert wird. Die Gittervorspannung, d. h. Steilheit und Empfindlichkeit dieses Relais, würde durch das Adrenalin erzeugt werden, das durch den Sympathikusast entsprechend dem wechselnden Sympathikustonus lokal gebildet würde. Die Höhe des Anodenstromes wäre dann ein Maß für die gegenregulatorische Kraft, durch die eine Glättung des Blutdruckniveaus erreicht werden soll.

Bemerkenswert bei den Adrenalinbetupfungen des Karotissinus von Palme ist noch die Dauer der erzielten Blutdrucksenkung, die auch nach Auswaschungen bis zu 30 Min. lang anhält, gegenüber der Dauer der Adrenalinblutdrucksteigerung, die meist nach 3, höchstens 5 Min. abgeklungen ist. Diese Blutdrucksenkungszeit steht in auffälliger Übereinstimmung zu der Dauer der Blutdrucksenkung, die man so oft im Anschluß an die Adrenalinblutdrucksteigerung beobachtet. Die Schlußfolgerung, diese depressorische Nachphase auf die langdauernde Erregung der Adrenalinchemorezeptoren zurückzuführen, ist nach den mitgeteilten Befunden nicht unberechtigt, da eine Blutdruckeinregulierung auf pressorische Reize viel schneller zu erfolgen pflegt[30, 36, 67]. Dafür spricht besonders auch unsere Beobachtung, daß beim ergotaminisierten Tier nach Ausschaltung der Sinus- und Aortennerven sich der Blutdruck nach Abklingen der kurzen pressorischen Adrenalinwirkung in einer bemerkenswerten Konstanz auf der Ausgangshöhe hält und auch die kleinste Depression vermissen läßt. Die bisherige Vermutung, Abbauprodukte des Adrenalins für diese zweite Phase als Ursache anzunehmen, hat dadurch an ihrer Wahrscheinlichkeit verloren.

Von Bedeutung für die Adrenalingegenregulation scheinen auch die Applikationsart und die dadurch bedingten Konzentrationsverschiedenheiten des Pharmakons zu sein. Bei der fast ausschließlichen intravenösen Verabfolgung des Adrenalins erfolgt auf dem Wege durch das Herz und den kleinen Kreislauf eine verhältnismäßig geringe Durchmischung mit dem Blut, so daß das Adrenalin an den branchiogenen Reflexzonen des Aortenbogens und des Karotissinus in einer relativ hohen Konzentration erscheint. So kann es vorkommen, daß Adrenalindosen, die im großen Kreislauf hinsichtlich einer Vasokonstriktion nicht die Schwelle erreichen, bereits die Chemorezeptoren zum Ansprechen bringen. Durch diese scheinbare Schwellenverschiebung, die durch die Konzentrationsverschiedenheiten vorgetäuscht wird, zugunsten des depressiven Gegenregulationsmechanismus erklärt sich zwanglos die treppenförmige Blutdrucksenkung nach rasch aufeinander folgenden kleinsten Adrenalindosen.

Es lag nahe, für eine Substanz, die, wie N_{18}, den Blutdruck so ausgiebig in der ersten Wirkungsphase senkt, ebenfalls einen chemischen Angriffspunkt im Karotissinusgebiet zu vermuten. Dies hat sich jedoch nicht bestätigt. Lokal auf den Sinus aufgetupft wurde keine Wirkung beobachtet; es konnte festgestellt werden, daß sowohl die depressorische als auch pressorische Phase nach Ausschaltung aller Pressorezeptoren, nach Sinusnervendurchtrennung mit Unterbindung der Carotis interna und nach Vagotomie nicht verhindert werden konnte.

Als zweite Substanz wurde Ephedrin lokal auf den Sinus aufgebracht, aber auch hier wurde keinerlei Wirkung beobachtet, die für ein Ansprechen der Chemorezeptoren gedeutet werden konnten. Auch die tachyphylaktische Wirkungsumkehr am Blutdruck war nach Durchtrennung der Sinus- und Aortennerven und auch nach Vagotomie in unveränderter Stärke vorhanden. Bei diesen beiden Substanzen, N_{18} und Ephedrin, liegt also der Angriffspunkt zur Auslösung der Blutdrucksenkung nicht im Sinusgebiet, sondern in der Peripherie selbst. Die Blutdruckumkehr nach Ergotamin-Adrenalin und die tachyphylaktische Blutdrucksenkung sind also Phänomene, die sich durch den Zugang zum blutdrucksenkenden Mechanismus wesentlich unterscheiden. Gemeinsam ist bei beiden Erscheinungen, daß durch das Ergotamin bzw. das Ephedrin selbst die sympathischen Vasokonstriktoren gelähmt werden und so beim Adrenalin und beim Ephedrin eine antagonistische Komponente zum Vorschein kommt; für die Ähnlichkeit des Ergotamins mit dem Ephedrin in dieser Hinsicht sprechen auch die von SCHÜBEL[68] mitgeteilten Befunde über die gegenseitige Vertretung und Verdrängung dieser beiden Stoffe. Die tachyphylaktischen Abschwächungs- und Umkehrphänomene erklären sich also durch eine Schwellenverschiebung, die die tachyphylaxieerzeugenden Substanzen am Ort ihres vasokonstriktorischen Angriffs selbst erzeugen.

Anders verlief die Prüfung von N_{14} (Diazetyladrenalinthiosulfonsäure), das, auf den Karotissinus des Meerschweinchens aufgebracht, deutlich bei Abklemmung der Karotis die Differenz zwischen reguliertem und enthemmtem Blutdruck verkleinerte und so für eine chemische Erregung des Sinusnerven sprach. Die *initiale Blutdrucksenkung*, die z. B. in Abb. 6 als erste Reaktion des Kreislaufs auf N_{14} zu sehen ist, kann nach dem Ergebnis des Auftupfungstestes als eine *primäre chemische Erregung des Sinusnerven* erklärt werden, da für die Annahme einer direkten Herzwirkung keine Anzeichen vorliegen. Denn die erste erkennbare Herzreaktion in Form einer Bradykardie tritt erst auf, als es durch die periphere Vasokonstriktion zu einer mächtigen Blutdrucksteigerung und dadurch zu einer Erregung der Pressorezeptoren kommt.

Es ist auch an die Möglichkeit zu denken, daß die Adrenalinsensibilität der branchiogenen Reflexzonen durch Pharmaka oder durch körpereigene Stoffe herabgesetzt oder aufgehoben werden kann und so z. B. für die Ätiologie von Hypertonien herangezogen werden kann. Als nächster Schritt wird es erforderlich sein, eine spezielle Pharmakologie und Toxikologie des Karotissinus und der entwicklungsgeschichtlich verwandten Zonen aufzustellen, die die großen Unterschiede, die durch die verschiedenen Tierarten bedingt sind, berücksichtigt und die auch die schwierige Frage der wirksamen Quantitäten zu klären hat. Die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Befunde werden noch in größeren Versuchsreihen zu bestätigen und zu erweitern sein.

Wir glauben, zu den bisherigen Kenntnissen über die pressorischen Regulationen des Blutdruckes und die Chemorezeption im Sinne Heymans einen Beitrag geliefert zu haben, der eine Bestätigung der Ansicht Dales[16] ist, daß die bekannten gefäßerweiternden Substanzen ihre Wirkung physiologischerweise nur lokal im Gewebe entfalten und die Blutdruckregulation im Gesamtkreislauf eine Domäne adrenergischer Mechanismen ist. *So zeigen auch unsere mitgeteilten Befunde, daß das Adrenalin ein echtes Kreislaufhormon im Sinne* Dales *ist, das bezüglich seiner Blutdruckwirkung auf dem Wege über die chemische Gegenregulation der branchiogenen Reflexzonen zu seinem eigenen Antagonist werden kann.*

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Versuchsanordnung beschrieben, mit dem beim narkotisierten Tier Blutdruck, Atmung, Herzfrequenz als Ordinate und Durchblutung mittels der Reinschen Thermostromuhr registriert wird und die die Änderung wesentlicher Kreislaufgrößen vermittelt. Die Eichmöglichkeiten der Thermoelemente der Reinschen Thermostromuhr werden untersucht und die Bedeutung der Gefäßwand für die Eichcharakteristik hervorgehoben.

2. Mit dieser Versuchsanordnung werden Kreislauf und Atmungsreaktionen nach einigen neuen adrenalinverwandten Substanzen untersucht. *Diazetyladrenalinthiosulfonsäure (N_{14}) steigert bei 6 bis 10 mg/kg den Blutdruck auf das Doppelte, nach 20 Min. ist die Ausgangshöhe wieder erreicht.* Adrenalinthiosulfonsäure (VN_{14}) zeigt gegen N_{14} eine geringe Gefäßwirkung, aber deutliche Förderung der Herzleistung. *Diazetylaludrinthiosulfonsäure (N_{18}) zeigt nach 5 mg/kg eine Blutdrucksenkung, die nach 15 Min. in eine langanhaltende Steigerung übergeht. Bei Kombination von 3,5 mg/kg N_{14} mit 5 mg/kg N_{18} resultiert eine über Stunden dauernde Blutdrucksteigerung.* Aludrinthiosulfonsäure (VN_{18}) wirkt ähnlich wie N_{18}, nur sind alle Reaktionen weniger

deutlich ausgeprägt. Mit N_{14} gelingt es auch, die Aludrintachykardie zu kompensieren.

3. Der Einfluß der Narkose auf die Kreislaufreaktionen wird besprochen und Literaturangaben über chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung von Sympathikuswirkstoffen zusammengestellt. Synthese und Abbau des Adrenalins sowie die Vorstellungen über die Übertragung sympathischer Erregungen auf die Erfolgsorgane werden besprochen.

4. *Es kann gezeigt werden, daß es im Karotissinusgebiet Chemorezeptoren für Adrenalin gibt, die ebenso wie die Pressorezeptoren blutdruckhemmend wirken. Die Adrenalinumkehr nach Ergotaminvergiftung kommt über die Erregung dieser Chemorezeptoren zustande; Ausschaltung der Sinus- und Aortennerven verhindert die Adrenalinblutdrucksenkung. Gleichsinnig wirkt Diazetyladrenalinthiosulfonsäure (N_{14}), dagegen sind Ephedrin und Diazetylaludrinthiosulfonsäure (N_{18}) unwirksam.* Dieses Regulationssystem an den branchiogenen Reflexzonen von Karotis und Aorta nimmt eine *pharmakologische Sonderstellung* ein und bildet ein *Reflexsystem eigener Art.* Die tachyphylaktischen Blutdruckveränderungen und die Adrenalinumkehrphänomene werden besprochen und als Schwellenverschiebung einer peripheren vasokonstriktorischen Komponente zugunsten unverändert reagierender Vasodilatation erklärt.

5. *Zur reflektorischen Selbststeuerung des Kreislaufes durch pressorische Reize ist die chemische Selbststeuerung durch das Adrenalin als Ergänzung hinzuzufügen.*

Literatur.

[1] ALDRICH: Amer. J. Physiol. **5**, 457 (1901). — [2] ALLES: J. Pharmacol. (Am.) **47**, 339 (1933). — [3] ANREP, CRUICKSHANK, DOWNING and SUBBA RAU: Heart **14**, 111 (1927). — [4] BACQ: Kongr.ber. 16. int. Physiol. Zürich 1938. — [5] BARGER and DALE: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 (1910/11). — [6] BECKER: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. Fachgr. II **3**, 183 (1940). — [7] BLASCHKO, RICHTER and SCHLOSSMANN: Biochem. J. (Brit.) **31**, 2187 (1937). — [8] BRAUCHLI u. CLOETTA: Arch. exper. Path. (D.) **129**, 72 (1928). — [9] BROEMSER u. RANKE: Z. Kreisl. forsch. **25**, 11 (1933). — [10] BOVET: Schweiz. med. Wschr. **1943**, 153. — [11] BÜLBRING and BURN: J. Physiol. (Brit.) **83**, 483 (1935). — [12] CANNON and LYMAN: Amer. J. Physiol. **31**, 376 (1912/13). — [13] CURTIS: J. Pharmacol. (Am.) **35**, 321 (1929). — [14] DAKIN: Proc. roy. Soc., Lond. **76**, 498 (1905). — [15] DALE: J. Physiol. (Brit.) **32**, 58 (1905). — [16] DALE: Vorwort zu GADDUM: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig 1936. — [17] DUESBERG u. SCHROEDER: Pathophysiologie und Klinik der Kollapszustände. Leipzig 1944. — [18] EICHLER: Arch. exper. Path. (D.) **187**, 429 (1937). — [19] EPSTEIN, GUNN and VIRDEN: J. Physiol. (Brit.) **76**, 224 (1932). — [20] FLECKEN: Arch. exper. Path. (D.) **168**, 400 (1932). — [21] FLEISCH: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. V, Teil 8, Kreislauf und Atmung 3, S. 907. — [22] GADDUM and KWIATKOWSKI: J. Physiol. (Brit.) **94**, 87 (1938). — [23] GADDUM: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig 1936. — [24] GREEN and RICHTER: Biochem. J. (Brit.) **31**, 596 (1937). — [25] GUGGENHEIM: Die biogenen Amine. Basel 1940. — [26] GUNN: Brit. med. J. **1939**, 4098. —

[27] Hammouda: Pflügers Arch. **238**, 107 (1936). — [28] Hauschild: Arch. exper. Path. (D.) **195**, 647 (1940). — [29] Heard and Welch: Biochem. J. (Brit.) **29**, 998 (1935). — [30] Heymans, Bouckaert et Regniers: Le sinus carotidien. Paris 1933. — [31] Heymans u. Bouckaert: Erg. Physiol. **41**, 28 (1939). — [32] Hjort: J. Pharmacol. (Am.) **50**, 131 (1934). — [33] Holzlöhner: Z. Biol. **91**, 531 (1931). — [34] Holzlöhner: Z. Biol. **92**, 293 (1932). — [35] Kiese: Arch. exper. Path. (D.) **178**, 342 (1935). — [36] Koch, Eb.: Die reflektorische Selbststeuerung des Kreislaufes. Dresden 1931. — [37] Konzett: Arch. exper. Path. (D.) **197**, 27, 41 (1940). — [38] Konzett: Klin. Wschr. **1940**, 1303. — [39] Kuschinsky: Arch. exper. Path. (D). **156**, 290 (1930). — [40] Kuschinsky: Klin. Wschr. **1938**, 145. — [41] Kuschinsky u. Oberdisse: Arch. exper. Path. (D.) **162**, 46 (1931). — [42] Loewi: Pflügers Arch. **189**, 239 (1921). — [43] Loewi: Pflügers Arch. **193**, 201 (1921). — [44] Loewi: Pflügers Arch. **203**, 408 (1924). — [45] Lullies: Pflügers Arch. **241**, 354 (1938). — [46] Marquardt: Arch. exper. Path. (D.) **201**, 234 (1943). — [47] Mertens, Rein u. Valdecasas: Pflügers Arch. **237**, 454 (1935). — [48] Mügge: Arch. exper. Path. (D.) **165**, 230 (1932). — [49] Palme: Z. Kreisl.forsch. **28**, 173 (1936). — [50] Palme: Z. exper. Med. **113**, 415 (1944). — [51] Pedden, Tainter and Cameron: J. Pharmacol. (Am.) **55**, 242 (1935). — [52] Philpot: Biochem. J. (Brit.) **31**, 856 (1937). — [53] Philpot: J. Physiol. (Brit.) **97**, 301 (1940). — [54] Raymond-Hamet: C. r. Soc. Biol. **1925/26**, 93. — [55] Rein: Pflügers Arch. **243**, 329 (1940). — [56] Rein: Erg. Physiol. **45**, 514 (1944). — [57] Rein: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **10**, 27 (1937). — [58] Richter: J. Physiol. (Brit.) **98**, 361 (1940). — [59] Rietschel: Klin. Wschr. **1939**, 671. — [60] Robbers: Arch. exper. Path. (D.) **185**, 486 (1937). — [61] Sarfy: Z. physiol. Chem. **255**, 271 (1938). — [62] Schaefer, H.: FIAT-Report **1947**, 779. Siehe auch Göpfert: Pflügers Arch. **249**, 209 (1947). — [63] Schaefer, H.: FIAT-Report (im Druck). — [64] Schaefer, H.: Pflügers Arch. **244**, 475 (1941). — [65] Schaefer, H.: Pflügers Arch. **249**, 405 (1947). — [66] Schaumann: Arch. exper. Path. (D.) **157**, 114 (1930). — [67] Schaumann: Arch. exper. Path. (D.) **160**, 127 (1931). — [68] Schübel: Arch. exper. Path. (D.) **157**, 113 (1930). — [69] Suprareninsynthese D.R.P. 152814. Chem. Zbl. **1904 II**, 270. — [70] Takamine: J. Physiol. (Brit.) **27** (1901). — [71] Takamine: Amer. J. Pharmacol. **73**, 523 (1901). — [72] Tainter: J. Pharmacol. (Am.) **40**, 23 (1930). — [73] Tainter: Arch. internat. Pharmacodynam. **41**, 365 (1931). — [74] Tainter: Arch. internat. Pharmacodynam. **42**, 128 (1932). — [75] Tainter: Arch. internat. Pharmacodynam. **46**, 192 (1933). — [76] Tainter u. Stockton: Amer. J. med. Sci. **185**, 852 (1933). — [77] Tainter, Pedden and James: J. Pharmacol. (Am.) **51**, 371 (1935). — [78] Thiel: Klin. Mbl. Augenhk. **108**, 10 (1942). — [79] Thtso u. Tootson: Pflügers Arch. **236**, 251 (1935). — [80] Trendelenburg, P.: Heffters Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. II/2. 1924. — [81] Trendelenburg, P.: Dtsch. med. Wschr. **1930**, 1957. — [82] Went, Lissak u. Keszty üs: Tagg ung. physiol. Ges. Budapest 1940. — [83] Wezler: Pflügers Arch. **244**, 622 (1941). — [84] Wezler u. Böger: Erg. Physiol. **41**, 292 (1939). — [85] Wezler u. Thauer: Arch. exper. Path. (D.) **200**, 84 (1942). — [86] Zipf: Arch. exper. Path. (D.) **189**, 679 (1938).

Aus der Hautklinik der Westfälischen Landesuniversität Münster
(Direktor: Prof. Dr. C. Moncorps).

Mathematisch-statistische Untersuchungen zur Bestimmung der mittleren wirksamen Dosis.

Von

Hans-Joachim Heite.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. September 1947.)

Bei allen dosimetrischen Bestimmungen von Arzneimitteln muß mit einer mehr oder weniger großen Empfindlichkeitsstreuung des Tiermaterials gerechnet werden. Die überwiegende Mehrzahl der Zahlenwerte liegt innerhalb eines bestimmten Empfindlichkeitsbereiches, eine Minderzahl jedoch liegt als Ausdruck einer Über- oder Unterempfindlichkeit außerhalb dieses Bereiches. Diese seit den grundlegenden Untersuchungen von de Lind van Wijngaarden[1], Behrens[2], Trevan[3], Gaddum[4], Burn[5] u. a. anerkannte Tatsache wird bei Toxizitätsbestimmungen in der Weise berücksichtigt, daß die tödliche oder sonst eindeutig wirksame Dosis an genügend großem Tiermaterial bei planmäßiger Anordnung der Dosierungsvariation unter Anwendung mathematisch-statistischer Prinzipien berechnet wird.

Das Ziel dabei ist einmal *rein deskriptiver* Art, nämlich, die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Empfindlichkeit bei den einzelnen Dosen durch ein oder zwei wohl definierte Zahlen möglichst kennzeichnend darzustellen. Im allgemeinen genügt die Angabe von zwei Maßzahlen der in Tabelle 1 aufgeführten Art, von denen die beschreibende Statistik mehrere zur Auswahl bereitstellt (Gebelein[6]). Zu betonen ist, daß die angeführten Maßzahlen paarweise zusammengehören. Daher ist es nicht korrekt, die Streuung auf die „LD 50" (s. Tabelle 1) zu beziehen, wie das gelegentlich geschehen ist. „Modus", „Medianwert" und arithmetisches Mittel sind nämlich nicht identisch, nur im Grenzfall einer vollkommen symmetrischen Häufigkeitsverteilung.

Welche der genannten Maßzahlen am zweckmäßigsten verwendet werden, wird durch das zweite Ziel der mathematisch-statistischen Versuchsauswertung entschieden, das einen *statistischen Schluß* bedeutet. Es soll nämlich die Frage beantwortet werden, welche Werte auf Grund der bisherigen Beobachtungen an m Tieren bei künftigen ähnlichen Versuchen an n Tieren zu erwarten sind. Diese Erwartungs-

werte sollen häufig mit den Beobachtungswerten eines zweiten Versuches verglichen werden. Auf diese Weise kann Vereinbarkeit oder sachliche Verschiedenheit beider Versuche geprüft werden. Nun sind a und σ die einzigen Größen, die den Untersuchungen mittels der Verfahren der statistischen Schlüsse zugänglich sind (GEBELEIN[6]); die anderen Maßzahlen sind für diesen Zweck ungeeignet. Daher hat sich die ausschließliche Benutzung von Mittelwert und Streuung zur Kennzeichnung statistischer Maßen mehr und mehr eingebürgert.

Tabelle 1. *Elementare statistische Maßzahlen zur Beschreibung statistischer Massen.*

Wert, der den häufig vorkommenden Empfindlichkeitsbereich kennzeichnet	Dazugehörende ergänzende Aussage, wie eng sich die einzelnen Dosen um den ersten Wert gruppieren
Häufigster Wert oder „Modus".	Spannweite, das ist Differenz zwischen den extremsten Dosen.
„Medianwert" (GEBELEIN[6]), „Zentralwert" (BEHRENS[2]) oder „LD 50" (TREVAN[3]), das ist der Wert, bei dem die Summenlinie der Häufigkeitsverteilung die relative Häufigkeit von 50% überschreitet.	Durchschnittliche Abweichung: $d = \frac{1}{m} \sum m_i \lvert x_i - M \rvert$ M = Medianwert; $\lvert x_i - M \rvert$ bedeutet Differenz zwischen x_i und M ohne Berücksichtigung des Vorzeichens.
Arithmetisches Mittel, $a = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^{k} x_i \cdot m_i$	Mittlere (quadratische) Abweichung σ oder ihr Quadrat, die Streuung: $\sigma^2 = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^{k} m_i (x_i - a)^2$

Es bedeuten: m Gesamtmasse, x_i Merkmalswert, m_i die zum Merkmalswert x_i gehörende Teilmasse, k Anzahl der Klassen.

Üblicherweise wird nun angenommen, daß der beobachtete Mittelwert gleich dem künftig zu erwartenden ist; und als Genauigkeitsmaß für diesen Mittelwert wird gewöhnlich das mittlere Abweichungsquadrat des Mittelwertes

$$\sigma_a^2 = \frac{\sigma^2}{m} \qquad (1)$$

angegeben (Bedeutung von σ und m s. Tabelle 1). Diese Formel beantwortet die Frage, innerhalb welcher Schwankungsbreite um den beobachteten Mittelwert herum der bei *unendlich großer* Tierzahl zu erwartende Mittelwert voraussichtlich liegen wird.

Vor der schematischen Anwendung dieser Formel hat schon PÜTTER[7] eindringlich gewarnt. Über diese Einwendungen hinaus ist zu beachten, daß diese Formel nur bei einigermaßen großen Kollektiven gilt. Außerdem ist bei kleinen Kollektiven zu berücksichtigen, daß der beobachtete Mittelwert nicht dem bei künftigen Versuchen zu erwartenden Mittelwert entspricht.

Für den Vergleich zweier Toxizitätsbestimmungen erscheint jedoch eine andere Fragestellung zweckmäßiger, welcher Mittelwert a nämlich bei künftigen Versuchen an einer *bestimmten endlichen* Tierzahl n wahrscheinlich zu erwarten ist. Diese Frage ist, sofern man gewisse Voraussetzungen macht, auch für kleinste Kollektive lösbar. Eine wesentliche Voraussetzung ist die sog. Gleichverteilung, die etwa bedeutet, daß, solange noch kein Versuch mit dem zu untersuchenden Gift vorliegt, für alle zu applizierenden Giftdosen der gleiche Empfindlichkeitsbereich als wahrscheinlich angenommen wird. Bezüglich weiterer Einzelheiten zur Problematik dieser Schlußweise sei auf GEBELEIN[6] verwiesen. Als Ergebnis des statistischen Schlusses erhält man den *Erwartungswert von a, $E(a)$, und dessen Genauigkeitsmaß die Streuung von a, $Str(a)$.*

Diese Werte haben etwa folgende Bedeutung: Wird die Toxizitätsbestimmung an n Tieren nicht nur einmal sondern häufiger wiederholt, so wird der Mittelwert nicht in allen Bestimmungen gleich sein, sondern auf Grund der Tiervariation um einen häufig vorkommenden Wert schwanken. Das arithmetische Mittel unendlich viele solcher Mittelwerte stellt $E(a)$ dar. $Str(a)$ bedeutet entsprechend das mittlere Abweichungsquadrat dieser unendlich vielen Mittelwerte bezogen auf $E(a)$. Wenn diese Schlußweise im folgenden angewendet werden soll, so muß sie auch an anderer Stelle der Toxizitätsbestimmung Berücksichtigung finden.

Eine grundsätzliche Schwierigkeit bereitet nämlich die Tatsache, daß nur in seltenen Fällen das Gift gerade so lange zugeführt werden kann, als zur Herbeiführung des Todes ausreicht. Im allgemeinen muß man den Prozentsatz der getöteten Tiere bei verschiedenen Dosen an mehreren Tierkollektiven bestimmen. Die so erhaltenen Zahlen der gestorbenen Tiere steigen dann mit der Dosis von 0—100%, entsprechen also der sog. Summenlinie einer statistischen Verteilung; aus einer derartigen Summenlinie ergeben sich ohne Schwierigkeit durch Differenzbildung die einzelnen Besetzungszahlen der Verteilung selbst, die dann zur Berechnung von Mittelwert, Streuung usw. dienen können. Dies einfache Prinzip geht auf WIECHOWSKI[8] und TREVAN[3] zurück.

Dabei wird jedoch häufig eine störende Erscheinung beobachtet. Wenn der Wirkungsprozentsatz der höheren Dosis niedriger liegt als bei der vorangehenden niedrigen, so treten in der abgeleiteten Häufigkeitsverteilung „negative Häufigkeiten" auf, die bis in die jüngste Zeit wiederholt Anlaß zu Diskussionen gaben. Während LANGECKER[9] derartige Versuchsergebnisse als unbrauchbar verwirft, und KOCHMANN[10], BEHRENS[2] und KÄRBER[11] verschiedene rechnerische Kunstgriffe anwenden, um zu einem äußerlich „glatten" Ergebnis zu kommen, versuchen BIEHLER und WOLLSCHITT[12] sogar, solche negative Häufigkeiten auf tatsächliche Gegebenheiten im Tiermaterial zurückzuführen.

Alle diese rechnerischen Kunstgriffe gehen aber wohl am Kern des Problems vorbei. Aus dem Auftreten von negativen Häufigkeiten dürfte wohl als wichtigstes der Schluß zu ziehen sein, daß ein *Mißverhältnis* zwischen *Tierzahl* und *Klassenbreite* besteht, d. h. daß die Versuchsanlage unzweckmäßig ist und ungerechtfertigt viel Tiere verbraucht. Ist nämlich der Abstand der einzelnen Dosen gegenüber der Tierzahl zu gering, so ist die Schwankungsbreite bei einer Giftdosis größer als der Wirkungsunterschied gegenüber der Nachbardosis. Wesentlich neue Ergebnisse vermag die Nachbardosis dann aber nicht zu erbringen. Ihre Anwendung ist daher wenig sinnvoll, solange nicht in allen Kollektiven die Tierzahl erhöht wird. Versuchsergebnisse, die auf Grund zu geringer Tierzahl unerwünscht stark streuen, werden aber auch durch rechnerische Kunstgriffe nicht genauer.

Tabelle 2.

Dosis je kg Tier	Gestorbene Tiere	
	absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit
x_1	u_1	u_1/u
x_2	u_2	u_2/u
.	.	.
.	.	.
x_{k-1}	u_{k-1}	u_{k-1}/u
x_k	u_k	u_k/u
oder allgemein ausgedrückt:		
x_i	u_i	u_i/u

Hinzukommt, daß das Prinzip von WIECHOWSKI[8] und TREVAN[3], auf das alle diese Berechnungsmethoden letzten Endes zurückgehen, eine begriffliche Unsauberkeit enthält.

Diese Autoren betrachten die Zahlen aller Wirkungsprozentsatzbestimmungen ohne weiteres so, als ob ein einziges statistisches Kollektiv mit k-facher Klassenaufteilung vorläge, wobei k die Zahl der applizierten Giftdosen bedeutet. In Wirklichkeit liegen aber k voneinander unabhängige Einzelkollektive mit einfacher Klassenaufteilung vor. Denn jede Bestimmung erfolgt an anderen Tieren und bei anderer Giftdosis, so daß kein gemeinsames Kennzeichen vorhanden ist, das die einzelnen Bestimmungen zu einem Kollektiv zu vereinigen gestattet.

Bei Anwendung des Prinzips von WIECHOWSKI[8] und TREVAN[3] macht man ferner stillschweigend die Voraussetzung, daß der an einem Kollektiv beobachtete Wirkungsprozentsatz auch am anderen Kollektiv zu erwarten sei. Diese Voraussetzung ist aber nur bei sehr großen Kollektiven erfüllt; bei den üblichen kleinen Tierzahlen von 5—10 Stück trifft sie nicht zu. Außerdem zieht man dabei einen statistischen Schluß und muß daher angeben, welcher Sicherheitsgrad dieser Schlußweise anhaftet. Dies muß beides bei der Rechnung Berücksichtigung finden.

Es erscheint uns daher zweckmäßig, zu untersuchen, ob die Anwendung der etwas anders gearteten Schlußweise, nämlich auf eine Objektmasse *endlichen* Umfanges geeignet ist, neue Gesichtspunkte für die Gestaltung und Bewertung von Toxizitätsbestimmungen zu erbringen.

Mathematische Entwicklung der Berechnungsformeln.

Wir gehen aus von vorstehender Toxizitätsbestimmung an k gleichstarken Kollektiven zu je u Tieren, denen also k verschiedene Dosen appliziert wurden (Tabelle 2). Von jeder einzelnen dieser k Versuchsreihen, die vollkommen unabhängig voneinander sind, wird nach den

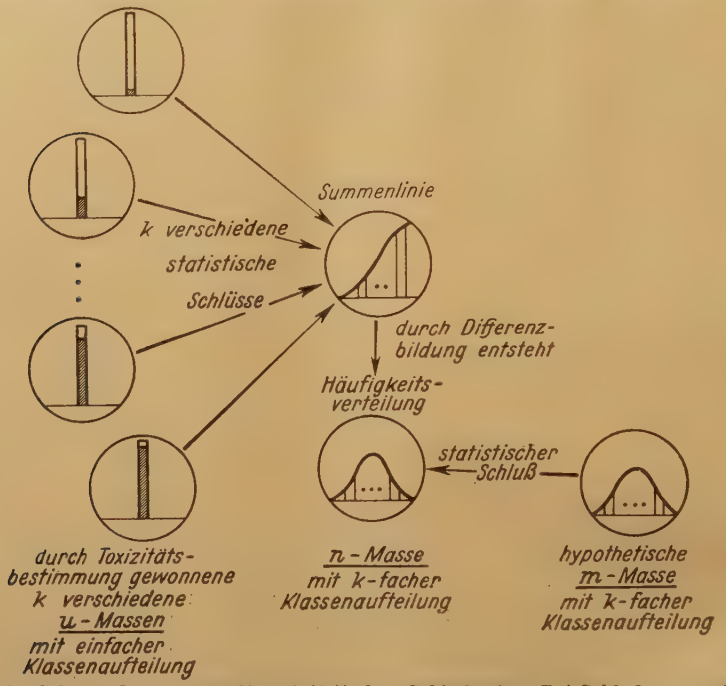


Abb. 1. Schema der angewandten statistischen Schlußweise. Bei Schluß von m-Masse auf n-Masse sollen gleicher Mittelwert und gleiche Streuung in der n-Masse auftreten wie bei den k einzelnen Schlüssen von den u-Massen auf die n-Masse. Damit ist die hypothetische m-Masse hinreichend definiert und kann errechnet werden. In der m-Masse steht alsdann ein einheitliches Kollektiv mit k-facher Klassenaufteilung als Berechnungsgrundlage zur Verfügung.

Formeln, wie sie für statistische Schlüsse gelten[6]*, auf ein und dieselbe Objektmasse von n Tieren geschlossen (s. Abb. 1). So erhält man statt der k einzelnen u-Massen mit einfacher Klassenaufteilung eine einzige n-Masse mit k-facher Klassenaufteilung. In dieser n-Masse ließen sich nun ohne weiteres die statistischen Maßzahlen berechnen. Wir beachten noch, daß die relativen Häufigkeiten u_i/u in den einzelnen Ausgangsmaßen der Summenlinie einer statistischen Verteilung

* Nach WAGEMANN-GEBELEIN[6] unterscheidet man folgende statistischen Schlüsse: „Inklusionschluß": Schluß von Gesamtmasse auf Teilmasse; „Repräsentationsschluß": Schluß von Teilmasse auf Gesamtmasse; „Transponierungsschluß": Schluß von einer Teilmasse auf eine andere innerhalb einer großen unbekannten Gesamtmasse. Hier ist der Transponierungsschluß angewandt.

entsprechen; man bekommt daher in der n-Masse nicht die zur Rechnung notwendigen Einzelhäufigkeiten n_i/n, sondern die Häufigkeitssummen $\sum n_i/n$. Als Ergebnis erhält man nach den Lehrsätzen der mathematischen Statistik als Erwartungswert der Häufigkeitssumme

$$E_i = E\left(\sum_{i=1}^{k} \frac{n_i}{n}\right) = \frac{u_i + 1}{u + 2}. \tag{2}$$

Wir berechnen ferner die Streuung als Angabe, mit welcher Sicherheit dieser Schluß erfolgt:

$$Str_i = Str\left(\sum_{i=1}^{k} \frac{n_i}{n}\right) = \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{u+3} - \frac{1}{n(u+3)}\right) E_i(1 - E_i). \tag{3}$$

Bei der Weiterrechnung ist zu berücksichtigen, daß die n-Masse nicht durch statistische Aufnahme, sondern durch statistischen Schluß gewonnen wurde. Bei der Auswertung muß die bei den statistischen Schließverfahren auftretende Unsicherheit, zahlenmäßig durch Str_i erfaßt, berücksichtigt werden. Dies wird im folgenden in der Form durchgeführt, daß die Errechnung der statistischen Maßzahlen nicht aus der n-Masse erfolgt, sondern aus einer hypothetischen m-Masse, die der Bedingung genügt, daß beim Schluß von der m-Masse auf die n-Masse gleicher Erwartungswert und gleiche Streuung erhalten werden wie bei den Schlüssen von den k verschiedenen u-Massen auf die n-Masse (s. Abb. 1). Durch diese Bedingung ist die m-Masse hinreichend gekennzeichnet; es gilt also ihre Größe m und die der Einzelhäufigkeiten m_i auszurechnen.

Die mathematische Statistik lehrt, daß beim Schluß von einer m-Masse mit k-facher Klassenaufteilung und den Besetzungszahlen m_i auf eine n-Masse mit den Besetzungszahlen n_i der Erwartungswert und die Streuung für die Häufigkeitssumme wie folgt lautet:

$$E_i = E\left(\sum_{i=1}^{k} \frac{n_i}{n}\right) = \sum_{i=1}^{k} \frac{m_i + 1}{m + k}, \tag{4}$$

$$Str_i = Str\left(\sum_{i=1}^{k} \frac{n_i}{n}\right) = \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{m+k+1} - \frac{1}{n(m+k+1)}\right) E_i(1 - E_i). \tag{5}$$

Aus (3) und (5) gelingt zunächst die Berechnung von m:

$$\left(\frac{1}{n} + \frac{1}{u+3} - \frac{1}{n(u+3)}\right) E_i(1 - E_i) = \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{m+k+1} - \frac{1}{n(m+k+1)}\right) E_i(1 - E_i)$$

$$\frac{n-1}{n(u+3)} = \frac{n-1}{n(m+k+1)}$$

$$m = u - k + 2. \tag{6}$$

Ferner gelingt aus (2) und (4) auch die Berechnung von m_i bzw. der zur späteren Rechnung ausschließlich benötigten Größe $m_i + 1$:

$$\sum_{i=1}^{k} \frac{m_i + 1}{m + k} = \frac{u_i + 1}{u + 2}$$

und unter Berücksichtigung von (6):

$$\sum_{i=1}^{k} (m_i + 1) = u_i + 1$$

$$\boxed{m_i + 1 = u_i - u_{i-1} = \Delta u_i .} \tag{7}$$

Die einzelnen Werte von m_i bzw. $m_i + 1$ dienen nun dazu, auf das arithmetische Mittel a in der n-Masse zu schließen. Die mathematische Statistik gibt als Erwartungswert und Streuung an:

$$E(a) = \sum_{i=1}^{k} x_i \frac{m_i + 1}{m + k}$$

$$Str(a) = \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{m + k + 1} - \frac{1}{n(m + k + 1)}\right)\left(\sum_{i=1}^{k} x_i^2 \frac{m_i + 1}{m + k} - E^2(a)\right),$$

wobei x_i den dazugehörigen Abszissen-(Dosen-)Wert bedeutet. Wir beachten, daß die Differenz $(u_i - u_{i-1})$ als Ordinate auf die obere Klassengrenze, also x_i zu beziehen ist (s. auch KÄRBER und BEHRENS). Daher ergibt sich unter Berücksichtigung von (6) und in etwas anderer Schreibweise:

$$\boxed{E(a) = \sum_{i=1}^{k} x_i \frac{\Delta u_i}{u + 2}} \tag{8}$$

$$\boxed{\begin{gathered} Str(a) = z^2 \cdot S \\ \text{mit: } z^2 = \frac{u + n + 2}{n(u + 3)} = \frac{1}{n} + \frac{1}{u + 3} - \frac{1}{n(u + 3)} \\ S = \sum_{i=1}^{k} x_i^2 \frac{\Delta v_i}{u + 2} - E(a) \end{gathered}} \tag{9}$$

Diskussion der entwickelten Formel.

Der Vorzug der entwickelten Formel besteht darin, daß an keiner Stelle Näherungsrechnungen vorkommen und auch nirgends sehr große statistische Massen vorausgesetzt werden müssen. Die erhaltenen Werte für Erwartungswert und Streuung gelten daher in gleicher Weise für große wie auch für kleinste statistische Kollektive. Außerdem

wird keine Voraussetzung über den Verlauf der Häufigkeitsverteilung gemacht. Die Formeln gelten also auch dann, wenn von der Gauss-schen Normalverteilung weit abweichende Verhältnisse vorliegen.

Die Größe der *Str* (*a*) hängt im Wesentlichen ab vom Umfang der einzelnen Ausgangskollektive u und dem Umfang der n-Masse, auf die geschlossen werden soll; dagegen offenbar nicht von der Zahl der Klasseneinteilungen, denn die Größe k kommt in der Formel (9) explizit nicht vor. Dies erscheint zunächst überraschend, steht aber in Einklang mit den Befunden von Behrens[2], der durch kombinatorische Ziehungsversuche gefunden hatte, daß durch Vermehrung der Klassen keine Steigerung der Genauigkeit zu erreichen ist, sofern die Gesamtzahl der verwendeten Tiere nicht wesentlich geändert wird. Dies leuchtet auch ohne weiteres ein, denn bei Vermehrung der Klassenzahl, also abnehmendem Dosenabstand, machen sich die Schwankungen infolge verschiedener Tierempfindlichkeit immer deutlicher bemerkbar, so daß die Besetzungszahlen der einzelnen Dosen schließlich völlig unregelmäßig werden.

Welches Verhältnis von Tierzahl und Klasseneinteilung ist am zweckmäßigsten?

Ein Mißverhältnis zwischen Klasseneinteilung und Tierzahl im Einzelkollektiv tritt offenbar dann nicht auf, wenn die nächst höhere Klasse außerhalb der Streuung der nächst niedrigen liegt. Es gilt also einen Überblick über die mögliche Größe dieser Abweichung zu erhalten. Wir haben daher für Tierkollektive verschiedener Größe den „zufälligen" Streuungsbereich bei verschiedenen Erfolgsprozentsätzen berechnet unter der Voraussetzung, daß auf ein gleichgroßes

Tabelle 3. *Erwartungswerte und Streuungen der Wirkungsprozentsätze beim Schluß von einem Tierkollektiv auf ein gleichgroßes zweites, ausgewertet für Kollektive verschiedenen Umfanges.*

Wirkungsprozentsatz in Subjektmasse (Ausgangsmasse)	Zu erwartende Wirkungsprozentsätze in Objektmasse und ihre mittleren Abweichungen bei verschiedenen Kollektiven				
	5 Tiere	10 Tiere	20 Tiere	40 Tiere	100 Tiere
0	14,3 ± 19,3	8,3 ± 11,6	4,5 ± 6,3	2,4 ± 3,3	1,0 ± 1,4
10		16,7 ± 15,3	13,6 ± 10,7	11,9 ± 7,1	10,8 ± 4,3
20	28,6 ± 24,8	25,0 ± 17,5	22,7 ± 12,7	21,4 ± 9,0	20,6 ± 5,7
30		33,3 ± 19,3	31,8 ± 14,1	31,0 ± 10,1	30,3 ± 6,5
40	42,9 ± 27,1	41,7 ± 20,2	40,9 ± 14,9	40,6 ± 10,7	40,2 ± 6,9
50		50,0 ± 20,5	50,0 ± 15,1	50,0 ± 10,9	50,0 ± 7,1
60	57,1 ± 27,1	58,3 ± 20,3	59,1 ± 14,9	59,7 ± 10,7	59,8 ± 6,9
70		66,7 ± 19,1	68,1 ± 14,1	69,2 ± 10,1	69,5 ± 6,5
80	71,4 ± 24,8	75,0 ± 17,5	77,3 ± 12,7	78,7 ± 9,0	79,3 ± 5,7
90		83,3 ± 15,3	86,4 ± 10,7	88,3 ± 7,1	88,2 ± 4,4
100	85,7 ± 19,3	91,6 ± 11,6	95,4 ± 6,3	97,6 ± 3,3	99,1 ± 1,4

Tierkollektiv als Objektmasse geschlossen wird. Hierfür gilt folgende Formel („Transponierungsschluß" bei einfach gegliederter statistischer Masse[6]):

$$E\left(\frac{n_0}{n}\right) = \frac{m_0 + 1}{m + 2} \qquad Str\left(\frac{n_0}{n}\right) = \frac{m + n + 2}{n\,(m + 3)} \cdot E\left(\frac{n_0}{n}\right) \cdot \left(1 - E\left(\frac{n_0}{n}\right)\right).$$

Dabei bedeuten:

m Zahl der Tiere in der Ausgangsmasse, m_0 Zahl der getöteten Tiere in der Ausgangsmasse, n Zahl der Tiere in Objektmasse, auf die geschlossen werden soll, n_0 Zahl der getöteten Tiere in Objektmasse.

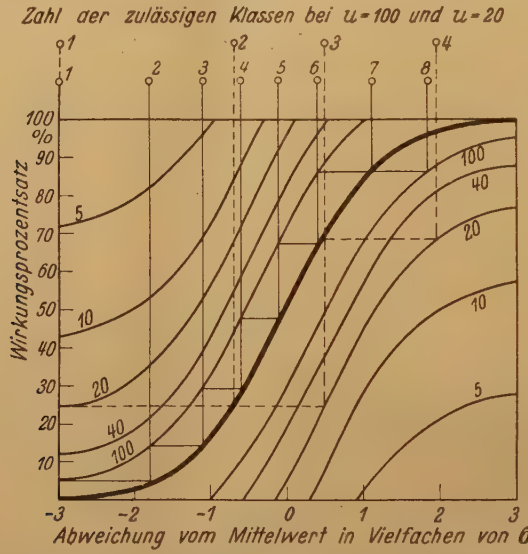


Abb. 2. Schematische Dosis-Wirkungskurve in Gestalt der Summenlinie einer GAUSSschen Normalverteilung, deren Streuung $\sigma^2 = 1$ ist. Die Ordinaten bedeuten Wirkungsprozentsätze, die Abscissen Abweichungen vom Mittelwert in Vielfachen von σ. Bei den einzelnen Wirkungsprozentsätzen ist der Schwankungsbereich des zu erwartenden Mittelwertes eingezeichnet unter Zugrundlegung der dreifachen mittleren Abweichung und für verschiedene Tierkollektive: $u = 5$, 10, 20, 40 und 100 Tiere. Voraussetzung ist der statistische Schluß auf ein gleichgroßes Objektkollektiv. Die Darstellung dient zur graphischen Abschätzung, wieviel Einzelkollektive zulässig sind, unter der Bedingung, daß der Wirkungsprozentsatz der höheren Klasse außerhalb der dreifachen mittleren Abweichung der niedrigeren liegt. Für $u = 20$ und $u = 100$ sind die graphischen Abschätzungen eingezeichnet.

Die Ergebnisse für Kollektive von 5, 10, 20, 40 und 100 Tieren bringt Tabelle 3. Daraus ist ersichtlich, daß der Schwankungsbereich namentlich bei den kleinen Kollektiven von 5 und 10 Tieren erheblich ist, und wie notwendig es ist, dies bei der Gestaltung von Toxizitätsbestimmungen zu berücksichtigen.

Wenn mit der höheren Dosis eine außerhalb der Schwankungsbreite liegende höhere Wirkung erzielt werden soll, so muß der Dosenabstand so gewählt werden, daß der Erfolgsprozentsatz der höheren

Dosis außerhalb des dreifachen mittleren Fehlers des Erfolgsprozentsatzes der niedrigeren Dosis zu liegen kommt. Um abschätzen zu können, welche Klassenzahl unter dieser Bedingung angängig ist, muß das Problem durch eine Zusatzannahme über den Verlauf der Häufigkeitsverteilung mathematisch eindeutig gemacht werden. Wir legen die Summenlinie des Gaussschen Normalverteilung zugrunde, was nach den ausführlichen Untersuchungen von Gaddum[4] für unsere Abschätzung in vollauf genügendem Maße gerechtfertigt ist. Außerdem läßt sich leicht zeigen, daß bei Zugrundelegung anderer Summenlinien, z. B. einer geraden Linie, kaum abweichende Ergebnisse auftreten. Abb. 2 zeigt die Summenlinie der Normalverteilung und die für einzelne Wirkungsprozentsätze zu erwartenden dreifachen mittleren Abweichungen bei verschiedenen Tierkollektiven. Aus den eingezeichneten Linien ist ersichtlich, daß z. B. bei 20 Tieren eine vierfache Klassenaufteilung, bei 100 eine achtfache unter obiger Bedingung möglich ist. Die auf diese Weise gefundenen Abschätzungen über maximal „zulässige" Klassenaufteilungen sind in Tabelle 4 zusammengefaßt.

Tabelle 4.

Anzahl der Tiere eines Kollektivs	Abschätzung über maximal zulässige Zahl der Kollektive bei Wirkungsabstand von 3 σ
5	—
10	3
20	4
40	5
100	8

Bei einer dreifachen Klassenaufteilung können die beiden Außenwerte — entsprechend 0 und 100% Wirksamkeit — beliebig weit nach außen verschoben werden; die Streuung kann dadurch willkürlich vergrößert werden. Es ist daher eine Mindestklassenzahl von 4, besser 5 zu fordern, was einer Tierzahl von 20—40 im Einzelkollektiv entsprechen würde. Dies steht im Einklang zu den Angaben von Burn[5], der mindestens 30 Tiere im Einzelkollektiv fordert, jedoch keine Angabe über die Klassenzahl macht.

Vergleich mit bisher üblichen Formeln.

Die bisher auf Grund des Prinzipes von Wiechowski[9] und Trevan[3] angewandten Formeln lauten unter Verwendung unserer Symbole:

Mittelwert:

$$a = \frac{1}{u} \sum_{i=1}^{k} x_i \cdot u_i; \tag{10}$$

mittlerer Fehler des Mittelwertes:

$$\sigma_a^2 = \frac{\sigma^2}{u} = \frac{1}{u} \left(\sum_{i=1}^{k} x_i^2 \frac{u_i}{u} - a^2 \right). \tag{11}$$

Beim Vergleich mit (8) und (9) fällt auf, daß die Unterschiede zwischen a und $E(a)$ nicht erheblich sind; deutlicher ist der Unterschied zwischen σ_a^2 und $Str(a)$, wobei $Str(a)$ etwas größer ausfällt. Die mit den neuen Formeln erhaltenen Ergebnisse sind in ihrer Schlußweise demgemäß etwas vorsichtiger. Die Unterschiede sind jedoch nicht groß, so daß (10) und (11) als brauchbare Näherungsformel gelten kann und damit das Prinzip von WIECHOWSKI[8] und TREVAN[3] gerechtfertigt erscheint. Der Unterschied an Rechenarbeit zwischen beiden Formelpaaren ist unbedeutend. Da aber (8) und (9) geeignet sind, auf eine Objektmasse endlichen Umfanges zu schließen, dürften sie beim Vergleich zweier Toxizitätsbestimmungen bequemer anzuwenden und daher vorzuziehen sein.

Zum Schluß soll die Durchführung der Rechnung in allen Einzelheiten an dem Beispiel der Toxizitätsbestimmung eines Arsenpräparates an Ratten[13] erläutert werden. Die Dosen x_i g/kg Körpergewicht (Spalte 1 in Tabelle 5) wurden 5 Kollektiven von je 20 Ratten gespritzt; es starben jeweils u_i-Tiere (Spalte 2).

Tabelle 5.

x_i	u_i	Δu_i	$\Delta u_i \cdot x_i$	x_i^2	$\Delta u_i \cdot x_i^2$
0,3	—	—	—	—	—
0,35	2	2	0,70	0,1225	0,245
0,40	14	12	4,80	0,16	1,92
0,45	19	5	2,25	0,2025	1,0125
0,50	20	1	0,50	0,25	0,25
			8,25		3,4275

$u = 20$

$E(a) = 8{,}25 : 22 = 0{,}375$ $\qquad$ $S = 3{,}4275 : 22 - 0{,}1406$

$E^2(a) = 0{,}1406$ $\qquad$ $= 0{,}1558 - 0{,}1406 = 0{,}0152.$

Beim Schluß auf eine gleichgroße n-Masse, also $n = 20$, wird der Streuungsfaktor $z^2 = 42 : 460 = 0{,}0913$

$Str(a) = 0{,}0913 \cdot 0{,}0152 = 0{,}001382$ $\qquad$ $\sqrt{Str(a)} = \pm 0{,}0373.$

Das Ergebnis lautet also: in einem Kollektiv von 20 Ratten ist die mittlere tödliche Dosis von $0{,}375 \pm 0{,}037$ g je Kilogramm Tier zu erwarten.

Zusammenfassung.

1. Statistische Schlußverfahren auf Kollektive endlichen Umfanges werden auf die Auswertung von Toxizitätsbestimmungen angewandt und Formeln für Erwartungswert und Streuung der mittleren tödlichen Dosis entwickelt.

2. Es wird geprüft, ob die durch Bestimmung der Wirksamkeitsprozentsätze bei k verschiedenen Dosen erhaltenen k Einzelkollektive

mit einfacher Klassenaufteilung nach dem Prinzip von Wiechowski und Trevan wie ein einziges Kollektiv mit k-facher Klassenaufteilung ausgewertet werden dürfen. Dieses Prinzip liefert brauchbare Näherungswerte und erscheint daher gerechtfertigt.

3. Es werden Angaben gemacht, wie durch ein zweckmäßiges Verhältnis von Tierzahl und Klasseneinteilung sog. „negative Häufigkeiten" verhindert werden können.

4. Die neu entwickelten Formeln bieten bei gleicher Rechenarbeit den Vorteil, in der Schlußweise etwas vorsichtiger zu sein; ferner sind sie für den statistischen Vergleich zweier Toxizitätsbestimmungen etwas handlicher.

Literatur.

[1] de Lind van Wijngaarden: Diss. Utrecht 1925. — Arch. exper. Path. (D.) **113**, 40 (1926). — [2] Behrens: Arch. exper. Path. (D.) **140**, 237 (1929). — [3] Trevan: Proc. roy. Soc., Lond. B **101**, 483 (1927). — [4] Gaddum: Med. Res. Council, Spec. Rep. ser. no. **183** (1933). — [5] Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin: Springer 1937. — [6] Gebelein: Zahl und Wirklichkeit. Leipzig: Quelle & Meyer 1943. — [7] Pütter: Die Auswertung zahlenmäßiger Beobachtungen in der Biologie. Berlin u. Leipzig: de Gruyter 1929. — [8] Wiechowski: Arch. exper. Path. (D.), Kongr.ber. **128**, 135 (1928). — [9] Langecker: Arch. exper. Path. (D.) **136**, 257 (1928). — [10] Kochmann: Arch. exper. Path. (D.) **152**, 47 (1930). — [11] Kärber: Arch. exper. Path. (D.) **162**, 480 (1931). — [12] Biehler u. Wollschitt: Arch. exper. Path. (D.) **198**, 278 (1941). — [13] Morrell u. Chepmann: J. Pharmacol. (Am.) **48**, 391 (1933).

Physiologisches Institut der Universität Sofia
(Direktor: Prof. Dr. D. P. Orahovats).

Blutdruck und Herztätigkeit.

VI. Mitteilung.

Kreislaufwirkung von Pepton.

Von

T. Gotsev.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. August 1944.)

Der Einfluß des Peptons auf den Blutkreislauf hat seit langem das Interesse der Forscher beschäftigt, so daß über diese Frage zahlreiche experimentelle Untersuchungen vorliegen. Besonders hat man sich mit Wesen und Ursachen des Peptonschocks befaßt, während es verhältnismäßig wenige Untersuchungen über die Wirkung des Peptons auf Blutgefäße und Herztätigkeit gibt. Gegenwärtig nimmt man allgemein an, daß intravenöse Injektion von Pepton Kreislaufstörungen verursacht, die vor allem in Abfall des Blutdrucks, Verminderung des Schlag- und Minutenvolumens, Blutanschoppung im portalen Kapillargebiet der Leber u. a. zum Ausdruck kommen, und die durch Verschluß oder Drosselung der abführenden Lebervenen und Erweiterung der anderen arteriellen und kapillaren Stromgebiete bedingt seien. Durch eine Lebersperre verursache das Pepton Ausflußhemmung. Die Kreislaufschädigungen im Peptonschock werden durch Erweiterung der Arteriollen und Anstauung von Blut in den erweiterten großen peripheren Kapillarbezirken, vor allem der Bauchorgane und der Muskulatur, hervorgerufen. Die Leber vergrößert ihr Volumen und durch Rückstauung füllen sich die großen portalen Bauchvenen. Infolgedessen werden die großen Venen nicht mehr gefüllt. Der Blutdruck fällt, sowohl infolge der arteriellen Erweiterung als der starken Verringerung des Minutenvolumens des Herzens wegen.

Diese Auffassungen werden von vielen Verfassern vertreten: Mautner und Pick[1], Bauer, Dale, Poulsson und Richards[2], Simonds[3], Feldberg, Schilf und Zernik[4], Cranston und Caillet[5] u. a. m.; außerdem findet man sie in den meisten Lehr- und Handbüchern (Meyer-Gottlieb[6], Poulson[7] u. a.).

Es muß jedoch sogleich betont werden, daß nicht alle Forscher diesen Ansichten unbedingt zustimmen. Auch widersprechende Ansichten sind in der Literatur anzutreffen. Während die einen annehmen, daß außer den Veränderungen im Zustand der Leberblutgefäße auch die der übrigen Organe der Bauchhöhle

den Peptonschock verursachen, sind andere der Meinung, daß in anderen Gefäßgebieten eintretende Veränderungen ihn bedingen.

Simonds und Ranson[8] haben Hunden Peptonlösung in die A. femoralis injiziert und plötzliche Vergrößerung des Schenkelvolumens beobachtet, auf die nach etwa 30 Sek. Volumenabnahme erfolgte. Sie nehmen an, daß Erweiterung der peripheren Blutgefäße an sich keinen Abfall des Blutdrucks verursachen kann. Die Untersuchungen Nikolaeffs[9] zeigen, daß Pepton auf die Blutgefäße der Nebenniere erweiternd wirkt. Garrelon und Santenoise[10] sind der Meinung, daß der erhöhte Tonus des N. vagus durch Steigerung der Schilddrüsensekretion Peptonschock verursachen kann; die Untersuchungen Quinquauds[11] und Gley und Quinquauds[12] jedoch zeigen, daß der Peptonschock ebenso unabhängig von der Schilddrüsensekretion wie von dem Tonus des N. vagus ist. Carlo Foà[13] nimmt an, daß Blutdruckabfall nach Pepton durch Erweiterung der Blutgefäße bedingt sei. Werden die parasympathischen Vasodilatationsnerven paralysiert, wie das bei Curarisieren von Hunden zu beobachten ist, so fällt der Blutdruck nicht nach Pepton. Watanabe[14] stellt fest, daß Injektion von geringen Dosen Pepton Witte die Adrenalinausschüttung um das 5—30fache erhöht. La Barre[15] findet, daß die Menge des ausgeschiedenen Adrenalins von der Peptondosis abhängt: bei geringen Dosen Pepton tritt erhöhte Ausscheidung ein, bei mittleren — anfängliche Herabsetzung, bei großen— Aufhören der Adrenalinausscheidung. Erhöhte Ausscheidung von Adrenalin stellen auch andere Verfasser fest, wie z. B. Tournade und Hermann[16]. Ihr wird der Wiederanstieg des arteriellen Drucks zugeschrieben. Nach Koref und Rivera[17] tritt nach Peptonschock starke Abnahme des Adrenalingehalts der Nebennieren ein. Nicola[18] ist in Versuchen an 9 entleberten Hunden zu dem Schluß gekommen, daß der Abfall des Blutdrucks nicht nur von hepatischen, sondern auch von extrahepatischen Faktoren abhängt.

Jung[19] beobachtete Abfall des Blutdrucks nach Verabreichung von Pepton an Tieren, deren gesamte Bauchorgane entfernt waren und nimmt deshalb an, daß am Peptonschock nicht nur die Bauchorgane, sondern auch die der übrigen Körperteile beteiligt seien. Emery und Griffith[20] stellen fest, daß Pepton Volumenabnahme der Leber verursacht.

Baudouin, Lewin und Sallet[21] haben gefunden, daß nach schneller Injektion von Pepton eintretender Abfall des Blutdrucks bei Hunden durch Dauerinfusion von Adrenalin behoben werden kann. Schnelle Injektion von Adrenalin, auch in größeren Dosen, hat keine solche Wirkungen auf den Blutdruck. Um festzustellen, welche Gefäßgebiete beim Peptonschock des Hundes als Blutdepot dienen, hat Baturenko[22] abwechselnd verschiedene Gefäßgebiete ausgeschlossen, und zwar die Extremitäten, die Aorta, V. cava inferior, Pfortader u. a. Darauf untersuchte er die Wirkung von Pepton auf den Blutdruck. Er kam zu dem Schluß, daß die Schockerscheinungen auch bei völligem Ausschluß der Leber aus dem Blutkreislauf eintreten, sogar unter diesen Bedingungen stärker werden. Nach ihm dienen als Hauptblutdepot beim Peptonschock die Blutgefäße der gesamten Bauchhöhle. Durchschneiden des N. vagus und N. sympathicus am Halse hindert das Eintreten des Peptonschocks nicht. Injektion von Adrenalin in großen Dosen beeinflußt in einigen Fällen den Schock in günstigem Sinne, in anderen führt sie zu letalem Ausgang. Aus seinen Versuchen geht hervor, daß Gynergen, das an sich starke Zusammenziehung der Blutgefäße verursacht, den Peptonschock nicht wesentlich beeinflußt. Nach Rückenmarkdurchschneidung haben Petrovsky, Baturenko, Kravchenko und Severin[23] in allen Fällen von Verabreichung von Pepton Abfall des Blutdrucks beobachtet. Einige paradoxe Reaktionen, wie z. B. Erhöhung des Blutdrucks bei Pepton nach Chloralhydrat, erklären die Verfasser mit Adrenalinausschüttung.

Aus den bisher angeführten Ergebnissen experimenteller Untersuchungen verschiedener Verfasser geht hervor, daß eine einheitliche Ansicht über die Ursachen des Peptonschocks nicht besteht. Während die meisten Verfasser annehmen, daß der Abfall des Blutdrucks von in den Leberblutgefäßen eintretenden Veränderungen bedingt sei, sind andere der Meinung, daß Veränderungen in den Blutgefäßen der gesamten Bauchorgane für ihn verantwortlich zu machen seien, während wieder andere dafür halten, daß die Ursache des Peptonschocks in Veränderungen in den Blutgefäßen der übrigen Körperteile gesucht werden müsse. Wir möchten betonen, daß die Mehrzahl der Forscher nach Verabreichung von Pepton erhöhte Adrenalinausscheidung feststellt. Einige Verfasser beobachten gewisse Veränderungen in der Geschwindigkeit des Pulses, die nach ihrer Meinung auf Adrenalinausschüttung zurückzuführen sind.

Deutlich ist jedoch, daß die Frage nach den Ursachen des Peptonschocks bisher immer noch ungelöst geblieben ist.

Die vorliegende Arbeit hat es sich zur Aufgabe gesetzt, zu untersuchen, welche Veränderungen in den Blutgefäßen zweier großer Gebiete nach Verabreichung von Pepton eintreten — ferner welche Veränderungen in Herztätigkeit und Blutdruck, und zwar in der Aorta, in den Arterien und den Venen sich zeigen. Wie auch in den früheren Mitteilungen interessiert uns besonders das Abhängigkeitsverhältnis zwischen den Veränderungen in großen Gefäßgebieten und dem Niveau des Blutdrucks. Uns ist interessant die Frage, ob die Veränderung des Blutdruckniveaus in allen Fällen auf Veränderungen im Zustand der Blutgefäße zurückzuführen ist oder ob auch hier ein anderer Faktor, wie die Herztätigkeit, die wichtigste Ursache für die Veränderung im Blutdruck sein kann.

Um diese so gestellte Aufgabe zu lösen, wurden Versuche an 35 Hunden verschiedenen Alters, Gewichts und Geschlechts vorgenommen. Die Tiere wurden mit Luminal-Natrium narkotisiert. Wir untersuchten die Veränderungen im Zustand der Blutgefäße dreier Bauchorgane — nämlich: der Milz, des Dünndarms und der Nieren, ebenso die der Extremitäten, Die Technik war dieselbe wie in den voraufgehenden Mitteilungen. Veränderungen in der Blutfülle der Bauchorgane wurden mit Hilfe des Onkographen von Orahovats und Popoff registriert, Veränderungen in der Muskulatur mit dem Plethysmographen. Veränderungen in der Leistung der linken Kammer wurden mit Hilfe des Tonographen verzeichnet. In einigen der Versuche nahmen wir eine Evisceration der Tiere vor, wobei alle Organe der Bauchhöhle ausgeschnitten und herausgenommen wurden, nachdem die Blutgefäße vorher durch doppelte Ligaturen abgebunden waren. Bei diesem Eingriff achteten wir darauf, daß das Tier kein Blut verliere und der Blutdruck auf diese Weise seine normale Höhe bewahre. In einem Falle nahmen wir außer der Evisceration auch eine Verkürzung des großen Kreislaufs vor, wobei zuerst die Aorta abdominalis und V. cava inferior durch Ligaturen gesichert wurden. Danach entfernten wir den Kopf des Tieres

und untersuchten die Peptonwirkung auf den Blutdruck. Die Untersuchungen des isolierten Froschherzens wurden an Rana viridis und Rana esculenta nach der Methode von Straub vorgenommen. Wir benutzten ausschließlich Pepton Witte, in Ringerlösung gelöst, in Konzentrationen von 1‰, 1%, 5% und 10%. Alle Lösungen wurden ex tempore hergestellt und in die V. jugularis ext., A. femoralis und Aorta abdominalis injiziert.

Ergebnisse.

I. Blutdruck.

Als erstes ist zu sagen, daß die Veränderung im Blutdruckniveau von der Konzentration der Lösung und besonders der Geschwindigkeit der Injektion abhängt. Während schnelle Injektion stärker konzentrierter Peptonlösungen schnell eintretenden und stark ausgesprochenen Abfall des Blutdrucks, in manchen Fällen bis zum Nullpunkt des Quecksilbermanometers, zur Folge hat, ist langsame Injektion schwächer konzentrierter Lösungen nicht nur nicht imstande, Abfall des Blutdrucks hervorzurufen, sondern kann sogar Erhöhung bewirken. Bei langsamer Injektion schwächerer Lösungen kann das Tier beträchtliche Mengen Pepton vertragen, die es sonst in kürzester Zeit töten würden. Verwandelt man die langsame Injektion plötzlich in schnelle, so fällt der Blutdruck unvermittelt und steil ab. Folglich verursacht Injektion von Pepton gewöhnlich Abfall des Blutdrucks, doch kann sie auch Erhöhung oder sogar eine zweiphasige Veränderung verursachen, die in Abfall mit darauffolgender Erhöhung oder umgekehrt zum Ausdruck kommt. Der Charakter der Veränderung hängt in hohem Maße von der Geschwindigkeit der Injektion ab.

Der verändernde Einfluß des Peptons auf den Blutdruck hängt außerdem davon ab, an welcher Stelle es injiziert wurde. Gewöhnlich bewirkt intravenöse Injektion stärker ausgesprochene und schneller eintretende Veränderungen als intraarterielle.

Abb. 1 zeigt das Ergebnis eines Versuchs am Hunde, in dem unter der Einwirkung von 33 mg Pepton je Kilogramm Gewicht *schnell* in die V. jugularis ext. injiziert, Abfall des Blutdrucks um etwa 80 mm unter das Ausgangsniveau eintritt. Er erfolgt schnell und ist steil.

Abb. 2 stellt das Ergebnis eines anderen Versuches dar, in dem bei *langsamer* Injektion von 18 mg Pepton je Kilogramm Körpergewicht in die V. jugularis ext. eines Hundes Erhöhung des Blutdrucks um 30 mm Quecksilber erfolgt.

Bei langsamer Injektion kann das Tier beträchtliche Mengen Pepton vertragen, ohne daß irgendwelche Anzeichen von Peptonschock eintreten. So vertrug z. B. ein 6 kg schwerer Hund bei langsamer Injektion von 10% Peptonlösung insgesamt 2 g Pepton, ohne daß

irgendwelche sichtbaren Störungen eintraten. Der Blutbefund blieb unverändert auf seinem Ausgangsniveau. In diesem Fall vertrug das Tier über 0,3 g/kg Gewicht venös, ohne Schock, den man in solchen Fällen zu erwarten pflegt.

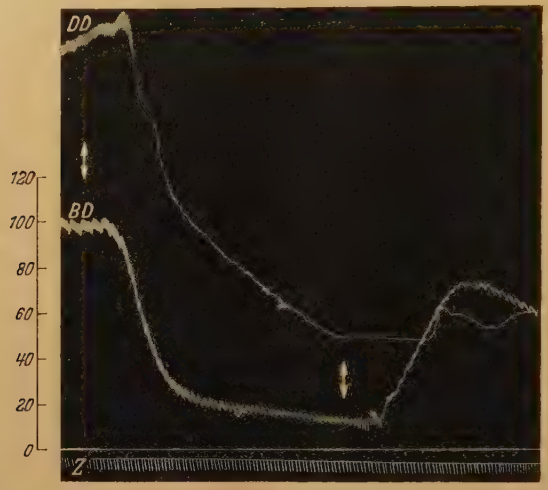


Abb. 1. 7. 7. 44. Hund 6 kg, ♀. *DD* Dünndarmvolumen; *BD* Blutdruck in der A. carotis; *0* Blutdrucknullniveau; *Z* Zeit in Sekunden. Bei ↕ links wurden 2 cm³ 10 %ige Peptonlösung schnell in die V. jugularis ext. injiziert. Bei ↕ rechts wurden $^1/_{10}$ mg Adrenalin in dieselbe Vene injiziert.

Einmalige Injektion einer kleinen Dosis Adrenalin bewirkt in der Mehrzahl der Fälle eine bedeutende Besserung des Blutdrucks, wie man auf Abb. 1 sieht, wo venöse Injektion von $^1/_{10}$ mg Adrenalin den

Abb. 2. 21. 3. 44. Hund 14 kg, ♀. *BD* Blutdruck in der A. carotis. Bei ↑ wurden 2,5 cm³ 10 %ige Lösung von Pepton Witte langsam in die V. jugularis ext. injiziert.

Blutdruck um etwa 60 mm Quecksilber hebt. In anderen Fällen ist Adrenalin imstande, den Blutdruck wieder auf das Ausgangsniveau oder sogar darüber hinaus zu treiben, wie auf Abb. 11 ersichtlich.

II. Blutgefäße.

Der Einfluß von Pepton auf die Blutgefäße hängt vor allem ab von der Stelle seiner Verabreichung — ob es in den arteriellen oder venösen Teil des Blutkreislaufs eingeführt wird.

a) Bauchorgane. Unter der Wirkung venös verabreichten Peptons treten Veränderungen in der Blutfülle der Milz, des Dünndarms und der Nieren ein. Diese Veränderungen hängen ausschließlich von den Veränderungen im Niveau des Blutdrucks ab. In Fällen, in denen der Blutdruck sinkt, d. h. in den meisten, tritt eine entsprechende Verringerung des Volumens der Milz, des Dünndarms und der Nieren ein; mit anderen Worten: passive Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms und der Nieren. In jenen Fällen, in denen der Blutdruck sich erhöht, wie bei langsamer Injektion von Pepton, zeigen die Blutgefäße des Dünndarms und der Nieren leichte Erweiterung.

Die Veränderungen in der Blutfülle der Bauchorgane treten nach Beginn der Veränderung im Blutdruckniveau ein. In keinem einzigen Fall gehen sie denen des Blutdrucks voraus.

Abb. 1 stellt einen Fall dar, an dem man sieht, wie gleichzeitig mit dem Abfall des Blutdrucks eine (passive ?) Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms einhergeht. Beide Kurven verlaufen parallel, und wenn der Blutdruck sein tiefstes Niveau erreicht, erreicht die Zusammenziehung der Blutgefäße ihr Maximum. Darauffolgende Injektion einer kleinen Dosis Adrenalin bessert den Blutdruck erheblich — gleichzeitig tritt auch die entsprechende Besserung in der Blutfülle des Dünndarms ein.

Abb. 3. 16. 3. 44. Hund 10 kg, ♀. *BD* Blutdruck in der A. carotis; *IhE* Volumen der linken hinteren Extremität; *0* Blutdrucknullniveau; *Z* Zeit in Sekunden. Bei ↓ wurden 2 cm³ 10 %ige Lösung von Pepton Witte' in die A. femoralis sinistra injiziert. Bei ↑ wurde dieselbe Dosis Pepton Witte in die V. jugularis ext. injiziert.

b) Extremitäten. Intravenöse Verabreichung von Pepton verursacht auch hier passive Veränderungen im Zustand der Blutgefäße. Auf den Abfall des Blutdrucks folgt passive Zusammenziehung der Blutgefäße, auf Erhöhung — passive Erweiterung derselben.

Wird jedoch Peptonlösung in die *A. femoralis* einer der hinteren Extremitäten injiziert, so tritt ausnahmslos in allen Fällen *Erweiterung* der Blutgefäße der entsprechenden Extremität ein. Die Veränderung im Zustande der Blutgefäße der Extremitäten bei arterieller Verabreichung von Pepton geht der Veränderung im Niveau des Blutdrucks um einige Sekunden vorauf. Tritt im Niveau des Blutdrucks stark ausgesprochener Abfall ein, so wirkt diese Veränderung ihrerseits auf die Blutgefäße, indem Erweiterung in passive Zusammenziehung übergeht. Auf diese Weise zeigt sich eine zweiphasische Veränderung, die sich in anfänglicher aktiver Erweiterung und folgender passiver Zusammenziehung ausspricht.

Abb. 4. 7. 7. 44. Hund 13 kg, ♂. *lhE* Volumen der linken hinteren Extremität; *BD* Blutdruck in der A. carotis; *Z* Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde 0,5 cm³ 5 %ige Lösung von Pepton Witte in die A. femoralis sinistra injiziert.

Ein solcher Versuch ist auf Abb. 3 dargestellt. Zu Beginn des Versuchs wurden in die A. femoralis sin. 20 mg Pepton je Kilogramm Gewicht injiziert. Als Ergebnis tritt zuerst aktive Erweiterung der Blutgefäße derselben Extremität ein und später, sobald der Blutdruck steil abzufallen beginnt, folgt passive Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität, eben die durch den verminderten Blutdruck. Es tritt eine zweiphasische Veränderung im Zustand der Blutgefäße der linken hinteren Extremität ein, in deren Arterie Peptonlösung injiziert worden war. Einige Minuten später wurde dieselbe Dosis Pepton in die V. jugularis ext. des Tieres injiziert. Als Ergebnis erscheint Abfall des Blutdrucks und darauffolgende passive Zusammenziehung der Blutgefäße der Extremität. Man sieht, wie die beiden Kurven, die des Blutdrucks und die der Blutgefäße, bei venöser Injektion einander völlig parallel verlaufen.

Das Ergebnis dieses unseres Versuches bei intraarterieller Injektion von Pepton ist das gleiche, das Simonds und Ranson[8] bei Injektion in die A. femoralis eines Hundes erhielten.

Auf Abb. 4 sieht man, wie nach Injektion von 2 mg Pepton je Kilogramm Körpergewicht in die A. femoralis sinistra eines Hundes starke Erweiterung der Blutgefäße derselben Extremität eintritt, auf die unbedeutender Abfall des Blutdrucks folgt.

Abb. 5 stellt das Ergebnis eines Versuches dar, in dem Injektion von 40 mg Pepton je Kilogramm Gewicht in die A. femoralis sinistra

schwach ausgesprochene Erweiterung der Blutgefäße der linken Extremität mit leichtem Abfall des Blutdrucks verursacht. Einige Minuten später verursacht dieselbe Dosis Peptonlösung demselben Tier *langsam* in die V. jugularis ext. injiziert, *Erhöhung* des Blutdrucks und *Erweiterung* der Blutgefäße derselben Extremität.

Folglich sehen wir, daß auch beim Pepton, wie bei den übrigen, in den vorhergehenden Mitteilungen besprochenen Substanzen, die Veränderung im Zustand der Blutgefäße vor allem davon abhängt, wo die Lösung injiziert wird: ob in den venösen oder arteriellen Teil des Blutkreislaufs. Wird Pepton intravenös injiziert, so folgen passive Veränderungen in den Blutgefäßen, die ausschließlich von der Veränderung

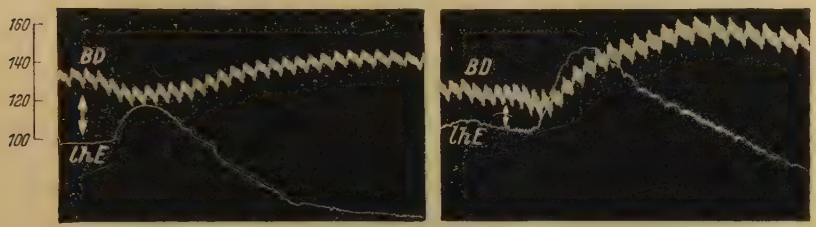


Abb. 5. 21. 3. 44. Hund 6 kg, ♀. *BD* Blutdruck in der A. carotis; *lhE* Volumen der linken hinteren Extremität. Bei ↕ links wurden 2,5 cm³ 10 %ige Lösung von Pepton Witte in die A. femoralis sinistra injiziert. Bei ↕ rechts wurde dieselbe Dosis Pepton Witte langsam in die V. jugularis ext. injiziert.

des Blutdruckniveaus abhängen. Injiziert man dagegen Peptonlösung *in die Arterie* einer Extremität, so tritt eine aktive Reaktion ein, und diese kommt immer in *Erweiterung* zum Ausdruck. *Man kann sagen, daß Pepton in der Tat die Blutgefäße erweitert, wie das von einer großen Anzahl Autoren festgestellt wurde, jedoch tritt diese Erweiterung nur dann in Erscheinung, wenn das Pepton unmittelbar ein Gefäßgebiet passiert, ehe es das Herz erreicht.* In den übrigen Gefäßgebieten, die das Pepton erst nach seinem Durchgang durch das Herz erreicht, kann seine spezifische vasodilatatorische Wirkung nicht in Erscheinung treten. Das wird durch die Veränderung im Blutdruck verhindert, die ihrerseits passive Veränderungen in den Blutgefäßen hervorruft.

III. Evisceration und Verkürzung des großen Blutkreislaufs.

Die Tatsachen, die wir durch eine Reihe von Versuchen an Hunden festgestellt haben, zeigen, daß der durch Pepton verursachte Abfall des Blutdrucks nicht durch Veränderungen in der Blutfülle der Milz, des Dünndarms, der Nieren und der Extremitäten zu erklären ist. Deshalb muß seine Ursache an erster Stelle in Veränderungen in der Blutfülle der übrigen Bauchorgane gesucht werden.

Um festzustellen, welchen Anteil die übrigen Organe der Bauchhöhle an diesen Erscheinungen haben, wurde in einigen Versuchen die Evisceration an Hunden vorgenommen und danach der Einfluß des Peptons auf den Blutdruck untersucht.

In diesen Versuchen fanden wir, daß Peptonschock bei eviscerierten Tieren ebensogut eintritt wie bei nichteviscerierten. Irgendwelchen besonderen Unterschied in der Wirkung von Pepton auf den Blutdruck von Tieren, deren Bauchorgane entfernt worden waren, konnten wir nicht feststellen.

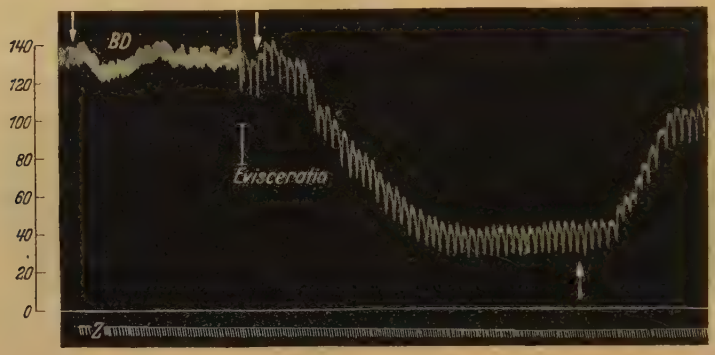


Abb. 6. 27. 7. 44. Hund 19 kg, ♂. *BD* Blutdruck in der A. carotis; *0* Blutdrucknullniveau; *Z* Zeit in Sekunden. Bei ↓ links wurden 1,5 cm³ 10 %ige Lösung von Pepton Witte in die V. jugularis ext. injiziert. Bei I wurde das Tier eviscerierte. Bei ↓ rechts wurden 10 cm³ 10 %ige Lösung von Pepton Witte in die V. jugularis ext. injiziert. Bei ↑ wurde $^1/_{10}$ mg Adrenalin in dieselbe Vene injiziert.

Die Abb. 6 stellt das Ergebnis eines Versuchs dar, in dem nach der Eviscerierung des Tieres die intravenöse Einverleibung von 5 cg Pepton Witte je Kilogramm Körpergewicht den gleichen Abfall des Blutdrucks verursacht wie bei einem nicht eviscerierten Tier. Der Blutdruck sinkt von 130 mm Hg bis auf 40 mm Hg, d. h. um 90 mm Hg unter das Ausgangsniveau. Nach intravenöser Injektion einer kleinen Menge Adrenalin tritt eine beträchtliche Verbesserung des Blutdrucks ein. Das Ergebnis dieses Versuches ist dem auf der Abb. 12 dargestellten gleich, bei welchem die intravenöse Verabreichung derselben Dosis Pepton genau denselben Abfall von 90 mm Hg (von 130 mm bis auf 40 mm) bewirkt. Die nachfolgende Einspritzung einer kleinen Menge Adrenalin ruft Verbesserung des Blutdrucks hervor.

In diesen auf Abb. 6 und 12 dargestellten Versuchen hatten die Tiere fast das gleiche Körpergewicht, das eine Tier 19 kg, das andere 20 kg. Die verabreichten Dosen Pepton sind gleich, 5 cg/kg Körpergewicht, und der Blutdruckabfall in beiden Fällen ist ebenfalls ganz gleich. Die beiden Blutdruckkurven sind ähnlich.

In einem anderen Versuch wurde außer Evisceration auch Verkürzung des großen Blutkreislaufs ausgeführt, indem die Blutversorgung der unteren Extremitäten und des Kopfes unterbrochen wurde. Das Rückenmark wurde am Halse durchschnitten. Auch in diesem Versuche konnten wir keinen wesentlichen Unterschied in der Peptonwirkung finden.

Diese Tatsachen zeigen, daß das Eintreten von Peptonschock nicht durch Veränderungen in der Blutfülle der Bauchorgane oder in der Muskulatur der Extremitäten erklärt werden kann. Wie wir oben schon erwähnten, nehmen die meisten Verfasser, die über diese Frage gearbeitet haben, an, daß die Ursache des Peptonschocks die Veränderung ist, die in der Blutfülle der verschiedenen Gefäßgebiete eintritt — den einen zufolge in der Bauchhöhle, nach anderen in der Muskulatur des Körpers. Angesichts unserer Versuche können wir dieser Auffassung nicht zustimmen. Außerdem hatten wir bei einem Versuch Gelegenheit zu beobachten, wie Peptonschock auch dann eintrat, als das verlängerte Mark und das Großhirn entfernt waren, so daß von einem Einfluß des Zentralnervensystems bei Peptonschock nicht die Rede sein kann.

IV. Herztätigkeit.

a) Frosch. Am isolierten Froschherzen verursacht die Verabreichung kleiner Dosen Pepton gewöhnlich eine leichte Verstärkung der Systole, wie man aus Abb. 7 ersieht. Wird dieselbe Dosis wiederholt, so wiederholt sich auch der Effekt. Verabreichung größerer Dosen Pepton führt zu Abnahme der diastolischen Entspannung der Kammer. Abb. 8 zeigt, wie nach Verabreichung von 1 Tropfen 10%iger Peptonlösung eine sehr große Verstärkung der systolischen Kontraktion eintritt. Der nachfolgende Zusatz von 4 Tropfen derselben Lösung ruft zuerst eine Abnahme der diastolischen Entspannung der Kammer hervor und unmittelbar darauf eine ganze Reihe von Störungen, wie Herzblock, verschiedene Typen von Extrasystolen (Bigeminus, Trigeminus) u. a. Mehrmaliger fortgesetzter Zusatz von Peptonlösung zu der das Herz durchspülenden Ringerlösung verursacht in den meisten Fällen Rhythmusstörungen, Herzblock oder Herzstillstand. Auf Abb. 9 sieht man, wie nach Zusatz von 15 Tropfen 10% Peptonlösung zu der Ringerlösung allmähliche Abnahme der diastolischen Entspannung eintritt, auf die Herzblock folgt. Abb. 10 stellt das Ergebnis eines Versuches an einem anderen

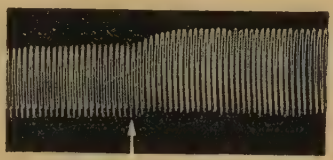


Abb. 7. 12. 4. 44. Froschherzpräparat nach Straub. Bei ↑ wurden 4 Tropfen 10%ige Lösung von Pepton Witte zugesetzt.

isolierten Herzen dar, in dem nach drei aufeinanderfolgenden Zusätzen von 5 Tropfen 10% Peptonlösung die Größe der Kammerkontraktionen abzunehmen beginnt und unmittelbar darauf Rhythmusstörung eintritt, die sich in Herzblock ausspricht. Man sieht, wie die Kammer sich nach zwei-, drei- oder mehrmaligen aufeinanderfolgenden Kontraktionen des Vorhofes je einmal zusammenzieht. Durchströmung des Herzens mit reiner Ringerlösung beseitigt die eingetretenen Störungen und stellt die normale Herztätigkeit wieder

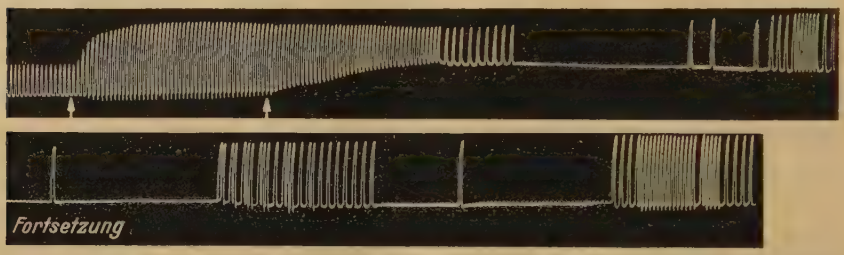


Abb. 8. 8. 8. 44. Rana viridis. Froschherzpräparat nach Straub. Bei ↑ links wurde 1 Tropfen 10 %ige Lösung von Pepton Witte zugesetzt. Bei ↑ rechts wurden 4 Tropfen derselben Lösung zugesetzt.

Abb. 9. 8. 4. 44. Froschherzpräparat nach Straub. Bei ↑ wurden 15 Tropfen 10 %ige Lösung von Pepton Witte zugesetzt.

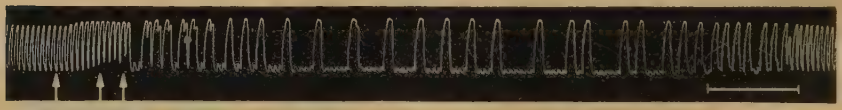


Abb. 10. 10. 4. 44. Froschherzpräparat nach Straub. Bei ↑ wurde je 5 Tropfen 10 %ige Lösung von Pepton Witte zugesetzt. Bei ⊢⊣ Durchspülung mit Ringerlösung.

her. Es gibt, wenn auch wenige Fälle, in denen Pepton keine besondere Wirkung auf die Herztätigkeit ausübt oder erst nach andauernder Verabreichung wirkt.

b) Hund. In der Herztätigkeit des Hundes verursacht Pepton meist Abnahme der Leistungsgröße der Kammer, wobei die Kontraktionen sich ständig verkleinern; gleichzeitig erscheint die Herztätigkeit in den meisten Fällen verlangsamt und in einigen treten Extrasystolen auf. Je nach der verabreichten Dosis kann die Abnahme der Herzleistung progressiv sein und mit diastolischem Herzstillstand oder Flimmern enden. In anderen Fällen wiederum tritt allmähliche Besserung der Herzleistung ein, die ihre anfängliche Größe völlig oder annähernd wieder erreicht. In den meisten Fällen genügt eine einmalige Injektion einer kleinen Dose Adrenalin, um die gestörte Herztätigkeit wiederherzustellen.

In seltenen Fällen, besonders bei langsamer Injektion kleiner Dosen Pepton, kann vorübergehende leichte Verstärkung der systolischen Kontraktionen eintreten, wie man sie zuweilen auch am Froschherzen beobachtet.

Bei gleichzeitiger Untersuchung der Veränderungen in Herztätigkeit und Blutdruck sieht man, daß mit der Abnahme der Herztätigkeit einhergehend Abfall des Blutdrucks eintritt. Die Geschwindigkeit, mit der dieser Abfall eintritt, sowie sein Umfang, hängen ausschließlich von Geschwindigkeit und Größe der Abnahme der Herztätigkeit ab. Das Auftreten von Extrasystolen führt unmittelbar zu klar ausgesprochenem Abfall des Blutdrucks. Besserung der Herztätigkeit bringt Besserung des Blutdruckniveaus mit sich, und wenn die Herztätigkeit ihr Ausgangsniveau wieder erreicht, so erreicht auch der Blutdruck wieder sein ursprüngliches Niveau. In Fällen dagegen, in denen Pepton Erhöhung des Blutdrucks verursacht, tritt erhöhte Leistungsgröße der Kammer ein.

Abb. 11 zeigt, wie unter der Wirkung von 2 cm^3 10% Peptonlösung, in die V. jugularis ext. injiziert, allmählich Verringerung der Größe der linken Kammerkontraktionen und leichte Verlangsamung der Herztätigkeit eintritt. Parallel damit verläuft allmählicher Abfall des Blutdrucks um 70 mm Quecksilber. Erreicht die Herztätigkeit ihr geringstes Ausmaß, so ist auch der Blutdruck auf seinem tiefsten Niveau angelangt. Außerdem sieht man, wie Injektion von 0,2 mg Adrenalin in dieselbe Vene des Tieres schnell eintretende Besserung und Beschleunigung der Herztätigkeit verursacht. Gleichzeitig damit verläuft die entsprechende Besserung des Blutdruckniveaus. Diese entspricht in jedem einzelnen Augenblick dem Grade, in dem sich die Herztätigkeit gebessert hat. Das unvermittelte Auftreten einiger Extrasystolen kommt in entsprechenden Änderungen des Blutdrucks zum Ausdruck — was besonders gut an den Punkten *a* und *b* des Tonogramms zu sehen ist.

Auf Abb. 12 sieht man, wie das Erscheinen einer Extrasystole (Punkt *a* auf dem Tonogramm) sich in plötzlichem Blutdruckabfall um einige Millimeter Quecksilber ausspricht (Punkt a_1 in der Blutdruckkurve). Auch hier folgt auf die Abnahme der Herztätigkeit ein in seiner Größe entsprechender Abfall des Blutdrucks. Besserung der Herztätigkeit nach Verabreichung von Adrenalin hat eine entsprechende Besserung des Blutdrucks zur Folge.

Kurz gesagt, kann man behaupten, daß auch hier, wie bei einer Reihe anderer, früher von uns untersuchter Stoffe, *völlige ursächliche Abhängigkeit der Veränderungen des Blutdruckniveaus von der Leistung der linken Kammer festzustellen ist.*

Abb. 11. 14. 7. 44. Hund 14,7 kg, ♀. *To* Tonogramm der linken Kammer: *BD* Blutdruck in der A. carotis: *0* Blutdrucknullniveau; *Z* Zeit in Sekunden. Bei ↓ links wurden 2 cm³ 10 %ige Lösung von Pepton Witte in die V. jugularis ext. injiziert. Bei ↓ rechts wurde 0,2 mg Adrenalin in dieselbe Vene injiziert.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Ergebnisse unserer Versuche zeigen ganz unzweideutig, daß der Peptonschock nicht durch Veränderungen in der Blutfülle der Bauchorgane und Extremitäten erklärt werden kann. Vor allem folgen diese Veränderungen denen im Blutdruck und gehen ihnen nicht vorauf. Außerdem erscheinen sie als passive Zusammenziehungen der Blutgefäße. Obgleich zahlreiche Verfasser Erweiterung der Blutgefäße der Bauchorgane oder der Extremitäten nach venöser Verabreichung von Pepton beschreiben, haben wir eine solche Erscheinung in einer langen Reihe sorgfältiger Versuche nicht konstatieren können. Wir beobachteten zwar auch Erweiterung der Blutgefäße, jedoch nur in jenen Fällen, in denen die Peptonlösung in die Arterie eines Gefäßgebietes eingeführt wurde und die Erweiterung nur die Blutgefäße dieses Gebietes erfaßte, während die Blutgefäße der übrigen Teile des Körpers rein passive Veränderungen erleiden, die ausschließlich vom Blutdruck abhängen. In allen Fällen, in denen der Einfluß der Herztätigkeit und des Blutdrucks auf die Blutgefäße ausgeschlossen wird, wirkt Pepton *erweiternd*. Angesichts der Tatsache, daß die meisten Forscher ihre Untersuchungen an isolierten Organen vorgenommen haben, ist es klar, warum sie Erweiterung der Blutgefäße festgestellt haben. So läßt sich auch der Unterschied zwischen unseren und den Ergebnissen der übrigen Verfasser erklären. Untersucht man jedoch die Veränderungen in den Blutgefäßen des ganzen Tieres, so

beobachtet man nur passive Veränderungen, wie sie von Simonds und Ranson[8] festgestellt wurden — und wie auch wir sie hier beschreiben.

Unabhängig von diesen Ergebnissen zeigen die Versuche mit Evisceration und Verkürzung des großen Blutkreislaufs klar, daß der Peptonschock nicht von Veränderungen in der Blutfülle der Bauchorgane und in der Muskulatur der Extremitäten abhängt.

Die Tatsachen, die wir in unseren Versuchen am isolierten Froschherzen feststellten, zeigen ihrerseits, daß Pepton häufig gewisse Veränderungen in der Herztätigkeit verursacht, wobei in den meisten

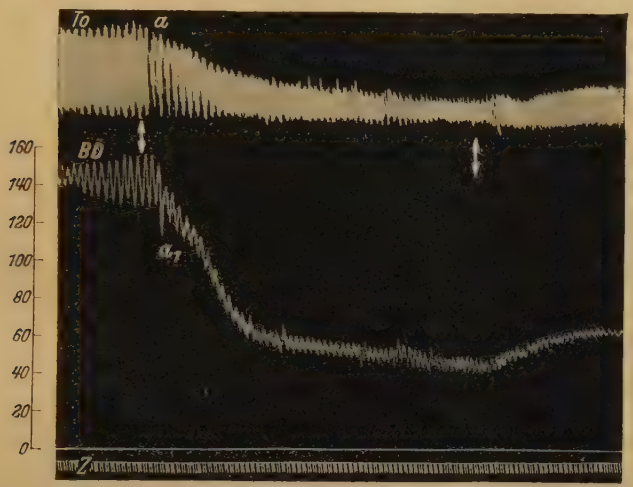


Abb. 12. 26. 4. 44. Hund 20 kg, ♂. *To* Tonogramm der linken Kammer; *BD* Blutdruck in der A. carotis; *0* Blutdrucknullniveau; *Z* Zeit in Sekunden. Bei ↕ links wurden 10 cm³ 10 %ige Lösung von Pepton Witte schnell in die V. jugularis ext. injiziert. Bei ↕ rechts wurde $^1/_{20}$ mg Adrenalin in dieselbe Vene injiziert.

Fällen Störungen der Kammerleistung, Herzblock u. a. eintreten. Die Untersuchungen an Hunden andererseits erweisen eine völlige ursächliche Abhängigkeit der Veränderungen im Blutdruck von denen der Herztätigkeit. Abb. 11 und 12 stellen zwei in dieser Beziehung typische Kurven dar, die aus der Fülle des zur Verfügung stehenden Materials ausgewählt wurden. Dieses ursächliche Abhängigkeitsverhältnis ist besonders klar ausgesprochen sowohl beim Abfall des Blutdrucks wie bei seiner spontanen Besserung — oder der Besserung nach Verabreichung von Adrenalin. Auf Abb. 11 sieht man, wie am Ende des Versuchs, wo die Herztätigkeit ihre anfängliche Größe erreicht und überschreitet, der Blutdruck ebenfalls auf sein Ausgangsniveau zurückkehrt und es übertrifft. In dem Augenblick, in dem die Herztätigkeit ihre ursprüngliche Größe wieder erreicht (Punkt *b* auf dem Tonogramm), erreicht auch der Blutdruck sein Ausgangsniveau von 90 mm Quecksilber. Etwas später, wenn die Herzleistung sich

verstärkt, sehen wir eine entsprechende Erhöhung des Blutdrucks um 20—30 mm Quecksilber über das Ausgangsniveau. Aus den beiden Kurven auf Abb. 11 ersieht man die völlige Entsprechung zwischen Herztätigkeit und Blutdruck in jedem gegebenen Augenblick.

Angesichts all dessen, daß wir in unseren Versuchen keinerlei Abhängigkeit des Peptonschocks von Veränderungen in der Blutfülle der Bauchorgane und Extremitäten feststellen konnten, und angesichts der Feststellungen, die wir über die Abhängigkeit zwischen Blutdruck und Herztätigkeit machten, sind wir gezwungen anzunehmen, daß Pepton bei intravenöser Injektion vor allem die Herztätigkeit verändert, die dann zu einer Änderung im Blutdruck führt, der wiederum seinerseits passive Veränderungen im funktionellen Zustand der Blutgefäße bewirkt. Die erste Ursache des Eintretens von Peptonschock ist folglich eine durch Pepton verursachte Veränderung der Herztätigkeit.

Zusammenfassung.

An 35 Hunden wurden die Veränderungen untersucht, die nach intravenöser und intraarterieller Verabreichung von Pepton Witte in der Blutfülle der Milz, des Dünndarms, der Nieren und der Extremitäten eintreten. Ebenso untersuchten wir die in Herztätigkeit und Blutdruckniveau eintretenden Veränderungen. Besondere Aufmerksamkeit wurde den Wechselbeziehungen zwischen diesen Veränderungen gewidmet. Außerdem untersuchten wir die Wirkung von Pepton auf eviscerierte Tiere und solche mit noch dazu verkürztem großem Blutkreislauf und entferntem Kopfe. An Fröschen wurde die Wirkung von Pepton Witte auf die Herztätigkeit untersucht.

Intravenöse Injektion von Pepton verursacht passive, ausschließlich von denen des Blutdrucks abhängende Veränderungen in der Blutfülle der drei Bauchorgane und der Extremitäten. Auf Abfall des Blutdrucks folgt passive Zusammenziehung der Milz und passive Vasokonstriktion in Nieren, Dünndarm und Extremitäten.

Intraarterielle Injektion von Pepton verursacht Erweiterung, jedoch nur jener Blutgefäße, die das Pepton unmittelbar, ohne seinen Weg über das Herz zu nehmen, erreicht. In den übrigen Gefäßgebieten verursacht Pepton nur passive Veränderungen in den Blutgefäßen.

Nach Evisceration der Tiere, Verkürzung des großen Blutkreislaufs und Entfernung des verlängerten Marks und Großhirns, erscheint der Peptonschock genau so wie beim ganzen Tiere.

Im Blutdruck ruft Pepton Abfall hervor, dessen Stärke von Konzentration der Lösung und Geschwindigkeit der Injektion abhängt. Bei langsamer Einspritzung kann das Tier große Dosen Pepton vertragen, ohne daß irgendwelche Veränderung im Niveau des Blutdrucks eintritt. In einigen Fällen verursacht langsame Injektion kleiner Dosen Pepton Erhöhung des Blutdrucks ohne irgendwelchen Abfall. Nach

schneller Injektion tritt schneller und steiler Abfall des Blutdrucks ein, der zum Tode des Versuchstieres führen kann.

Beim isolierten Froschherzen verursachen schwache Dosen Pepton häufig leichte Verstärkung der systolischen Kammerkontraktionen, während größere Dosen, besonders bei wiederholter Verabreichung, Störungen der Herztätigkeit hervorrufen, die in Abnahme der Größe der Herzkontraktionen, Extrasystolen, Herzblock u. a. zum Ausdruck kommen. Durchströmung des Herzens mit Ringerlösung beseitigt diese Störungen und stellt die normale Herztätigkeit wieder her.

Beim Hunde verursacht Pepton ebenfalls Störungen in der Herztätigkeit, die in Abnahme der Kontraktionsgröße der Kammern, Extrasystolen und Herzblock zum Ausdruck kommen. Große Dosen können auch Flimmern verursachen. Auf diese Veränderungen folgen die entsprechenden Veränderungen im Blutdruck, wobei die Herabsetzung der linken Kammerleistung zu Abfall des Blutdrucks, Verstärkung dagegen zu Erhöhung führt. Es ist eine völlige ursächliche Abhängigkeit der Veränderungen im Blutdruckniveau von denen in der Herztätigkeit festzustellen.

Das Eintreten von Peptonschock kann nicht durch Veränderungen in den Blutgefäßen der großen Gefäßgebiete der Bauchhöhle und der Extremitäten erklärt werden. Der wichtigste Faktor, der die Veränderungen im Blutdruck unter der Einwirkung von Pepton bedingt, ist die Veränderung in der Herztätigkeit.

Literatur.

[1] Mautner, H. u. E. P. Pick: Münch. med. Wschr. **1915**, 1141. — Naunyn-Schmiedebergs Arch. **97**, 306 (1923); **142**, 271 (1929). — [2] Bauer, Dale, Poulsson and Richards: J. Physiol. (Brit.) **74**, 343 (1932). — [3] Simonds, J. P.: Amer. J. Physiol. **65**, 512 (1923). — [4] Feldberg, W., E. Schilf u. H. Zernik: Pflügers Arch. **220**, 738 (1928). — [5] Cranston, E. and O. R. Caillet: J. Pharmacol. (Am.) **41**, 65 (1931). — [6] Meyer, H. H. u. R. Gottlieb: Lehrbuch der Pharmakologie, 1939, S. 308, 310, 315. — [7] Poul-son: Lehrbuch der Pharmakologie, 11. Aufl. 1937. — [8] Simonds, J. P. and S. W. Ranson: J. exper. Med. (Am.) **38**, 275 (1923). [9] Nikolaeff, M. P.: Z. exper. Med. **42**, 213 (1924). — [10] Garrelon, L. et D. Santenoise: C. r. Soc. Biol. **90**, 1150 (1924). — [11] Quinquaud, Alf.: C. r. Soc. Biol. **91**, 927 (1924). — [12] Gley, E. et Alf. Quinquaud: C. r. Soc. Biol. **91**, 863 (1924). — [13] Foà, Carlo: Arch. ital. Chir. **12**, 23 (1925). — Ronas Ber. **33**, 410 (1926). — [14] Watanabe, M.: Tôhoku J. exper. Med. (Jap.) **9**, 412 (1927). — Ronas Ber. **44**, 715 (1928). — [15] La Barre, J.: C. r. Soc. Biol. **98**, 861 (1928). — [16] Tournade, A. et H. Hermann: C. r. Soc. Biol. **98**, 342 (1928). — Ann. Physiol. (Fr.) **4**, 707 (1928). — [17] Koref, O. u. M. Rivera: Wien. med. Wschr. **1937 I**, 184. — [18] Nicola, C.: C. r. Soc. Biol. **105**, 714 (1930). — Rev. Soc. argent. Biol. **6**, 437 (1930). — Ronas Ber. **62**, 424 (1931). — [19] Jung, L.: C. r. Soc. Biol. **107**, 631 (1931). — [20] Emery, F., E. and F. R. Griffith jr.: J. Pharmacol. (Am.) **42**, 233 (1931). — [21] Baudouin, A. H. B., J. Lewin et J. Sallet: C. r. Soc.. Biol. **119**, 379 (1935). — [22] Baturenko, T.: Bull. Biol. et. Méd. expér. (USSR.) **4**, 510 (1937). — Ronas Ber. **108**, 153 (1938). — [23] Petrovsky, J. A., T. J. Batus renko, A. G. Kravchenko u. N. G. Severin: Fisiol. Z. **25**, 530 (1938). — Ronas Ber. **111**, 479 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Weese).

Untersuchungen über die Angriffspunkte von Cardiazol und Coramin.

I. Über die Krampf- und Weckwirkung.

Von

Fritz Hahn.

(Eingegangen am 4. Dezember 1947.)

Die Suche nach hochwirksamen und gut wasserlöslichen Wiederbelebungsmitteln gipfelte vor etwa zwei Jahrzehnten in der Synthese der beiden Spitzenpräparate Cardiazol und Coramin. Seitdem haben sich beide in dem Sturm lebhafter Diskussionen, dem sie als Konkurrenzpräparate ausgesetzt waren, gegenseitig den Rang nicht ablaufen können. Wenn daher offenbar keines der beiden Mittel einen generellen Vorzug verdient, so bleibt doch die Möglichkeit, daß es Indikationsgebiete gibt, wo das eine oder das andere der beiden Präparate seine Sondervorzüge besitzt. Nähere Auskunft hierüber kann man aber trotz des riesigen Schrifttums nicht erhalten. Vielleicht hat man bisher an diesem Problem oft vorbeigesehen, weil die übliche Einordnung beider Stoffe in die einheitliche Gruppe der zentralen Analeptica zu wenig Raum für eine solche differenzierende Betrachtung zu bieten schien. Und doch drängt sich angesichts der völlig verschiedenen chemischen Struktur beider Stoffe die Frage nach den pharmakologischen Unterschieden geradezu auf.

Auch auf die Erfahrungen des Tierexperiments läßt sich hierbei nicht erfolgreich zurückgreifen. Hier hat man allzusehr die Messung der Wirkungsstärke beider Stoffe im Narkoseweckversuch in den Vordergrund gestellt. Dabei kam man zu Befunden, bei denen das Cardiazol im großen und ganzen besser abschneidet. Durch die Verallgemeinerung dieses Befundes trat die experimentelle Pharmakologie in einen gewissen Gegensatz zur Klinik, die für eine einseitige Bewertung eines der beiden Stoffe keinen Anlaß sieht oder auch mancherorts dem Coramin den Vorzug gibt. Ein beredtes Zeugnis legte die Pharmakologentagung vor 12 Jahren in München ab.

Ein Ausweg aus diesem Widerspruch ergibt sich vielleicht, wenn man die überlegene allgemeine Weckwirkung im Narkoseversuch auf jeden Fall als einen Sondervorzug des Cardiazols anerkennt, dem ausgleichend aber auf anderen Gebieten Sondervorzüge des Coramins

gegenüberstehen könnten. Letztere wären aber noch genauer festzulegen. Es ergibt sich daher die Forderung nach einer möglichst umfassenden vergleichenden pharmakologischen Untersuchung beider Stoffe mit dem Ziel einer genauen Festlegung ihrer Angriffspunkte.

Die Aufgabe, die wir uns bei dieser Sachlage gestellt haben, lautet daher: an möglichst verschiedenartigen Einzelfunktionen oder Zentren des Zentralnervensystems zu prüfen, welche von diesen stärker auf Cardiazol und welche stärker auf Coramin ansprechen. Auf diese Weise kann einmal das differerierende Gesamtbild der Wirkung beider Stoffe aufgebaut werden.

Wichtig ist für derartige vergleichende Untersuchungen die genaue Festlegung eines Dosenverhältnisses. Man wird hierbei die Gepflogenheiten der Klinik berücksichtigen müssen, wo das Coramin 4—5mal höher dosiert wird. Nach den Erfahrungen des Tierexperiments dient hier die Krampfwirkung als Maße der effektiven Wirksamkeit beider Stoffe. Nach unseren Ermittlungen beträgt das Krampfdosenverhältnis von Cardiazol und Coramin bei intravenöser Zufuhr 1:5 bei der Katze und 1:7,5 beim Kaninchen, bei subcutaner Zufuhr beim Kaninchen 1:8,5. Bei dieser und den folgenden Mitteilungen wird also immer von dem am normalen Tier ermittelten Krampfdosenverhältnis ausgegangen werden.

Die Krampfwirkung steht in erster Linie in enger Beziehung zur allgemeinen Weckwirkung eines Analeptikums. Beide Vorgänge sind für ein gegebenes Analeptikum der Ausdruck eines gleichartigen und gleich lokalisierten Erregungsvorganges auf zentralnervös-motorischem Gebiet. Durch Analyse der Krampfwirkung ist daher zugleich auch eine Analyse der Weckwirkung erreichbar. Hierauf soll im Folgenden näher eingegangen werden.

Da die Güte der Weckwirkung eines Analeptikums davon abhängt, inwieweit seine Angriffspunkte mit denjenigen des Narkotikums übereinstimmen, und die Narkose die höheren Abschnitte des Zentralnervensystems bevorzugt, so lassen sich grobschematisch drei Möglichkeiten für den Antagonismus zwischen Narkotikum und Analeptikum konstruieren:

1. Günstigster Fall: Das Analeptikum erregt die höheren Abschnitte des Zentralnervensystems stärker als die niederen.

2. Weniger günstiger Fall: Es wirkt auf die höheren und niederen Abschnitte gleich stark ein.

3. Ungünstiger Fall: Es erregt die niederen Abschnitte stärker als die höheren.

Die Ansprechbarkeit der höheren Abschnitte des Zentralnervensystems auf ein Analeptikum ergibt sich aus der Vollständigkeit der

Weckwirkung. Als Maßstab der Ansprechbarkeit der weniger narkotisierten tieferen Abschnitte, insbesondere des Rückenmarks, kann uns die Größe der Krampfbereitschaft bzw. der Grad der therapeutischen Breite dienen; denn das Rückenmark wird wegen seiner geringen Narkotisierbarkeit bei einer Vergrößerung der Dosen, die zur Erzielung einer kompletten Wirkung an den höheren Zentren in der Narkose nötig ist, um so eher mit Krämpfen antworten, je mehr der Schwerpunkt der Wirkung des Analeptikums im Rückenmark liegt.

Die Einordnung des Cardiazols und Coramins in dieses Schema gelingt auf Grund folgender Weckversuche mit Numalnarkose, die wir als typische Beispiele aus einer großen Versuchsreihe herausgegriffen haben, über die (HAHN[1]) an anderer Stelle genauer berichtet wurde.

Tabelle 1.

Kaninchen Nr.	Numaldosis cm³/kg i.v.	Analeptikum	Dosis des Analeptikums mg/kg subc.	Dauer der Narkose in Stunden
1	0,6	Cardiazol	70	$2^1/_2$
		Coramin	600	$5^1/_2$
		Kontrolle	—	1. 5; 2. 5
2	0,6	Cardiazol	100	$^1/_2$
		Coramin	860	$8^1/_2$ Krämpfe
		Coramin + Cardiazol	430+ 50	$3^1/_2$
		Kontrolle	—	1. 4; 2. $4^1/_2$
3	0,7	Cardiazol	105	$1^1/_2$—2
		Coramin	900	über $7^1/_2$
		Kontrolle	—	1. $4^1/_2$—6; 2. 6

Man erkennt deutlich, daß das Cardiazol schon in der kleineren Dosis eine deutliche Narkoseverkürzung bewirkt (1. Kaninchen), die bei größerer Dosis noch deutlicher wird (2. Kaninchen). Die gleiche Dosis hat bei tieferer Narkose einen schwächesen, aber noch immer eindeutigen Effekt (3. Kaninchen). Die kleinere Coramindosis ist dagegen ohne Einfluß auf die Narkosedauer (1. Kaninchen). Die größere löst Krämpfe aus und bedingt eine Narkoseverlängerung (2. Kaninchen). Durch Vertiefung der Narkose verschwindet zwar die Krampfwirkung, aber die Narkoseverlängerung bleibt (3. Kaninchen).

In allen Fällen war unter Coramin auch bei späterer Narkoseverlängerung anfänglich eine deutliche, aber unvollständig bleibende Reduktion der Narkosetiefe festzustellen.

Dieses Ergebnis steht in grundsätzlicher Übereinstimmung mit ähnlichen Befunden in der Literatur. Wir führen es hier an, weil wir das normale Krampfdosenverhältnis als Vergleichsbasis für beide Analeptika zugrunde gelegt haben. Unter dieser Bedingung erkennen wir also das *Zurückbleiben des Coramins hinter dem Cardiazol 1. hinsichtlich*

der Vollständigkeit der Weckwirkung, 2. hinsichtlich der geringeren therapeutischen Breite (Krampfneigung) und 3. durch die Narkoseverlängerung, die auf eine lähmende Wirkungskomponente hindeutet.

Durch den letzteren Punkt wird die Beurteilung der Angriffspunkte des Coramins erschwert; denn es ergibt sich die Frage, ob nicht die unvollständige Weckwirkung mehr die Folge der lähmenden Coraminwirkung ist als einer zu geringen Wirkung auf die höheren motorischen Zentren. Nach allgemeinen Erfahrungen ist aber die lähmende Wirkung bei kleineren Dosen noch nicht deutlich vorhanden. Solche Dosen müßten daher zur Prüfung der Wirkung des Coramins auf die höheren Zentren geeignet sein. Von diesen ist aber schon wegen ihrer Kleinheit keine starke Wirkung zu erwarten. Ein Ausweg ergibt sich aber durch Prüfung des Synergismus kleinerer Dosen mit Cardiazol. Hierbei müßte sich ein additiver Effekt ergeben, wenn das Coramin die gleiche Wirkung auf die höheren Zentren hätte wie das Cardiazol. Der Versuch an Kaninchen 2 in Tabelle 1 läßt aber erkennen, daß die Kombination der um die Hälfte reduzierten Dosen von Cardiazol und Coramin bei weitem nicht den Erfolg hat wie die doppelte Cardiazoldosis für sich allein.

Hieraus schließen wir, *daß weniger die lähmende Coraminwirkung, die erst bei höherer Dosierung in Erscheinung tritt, als die geringere Wirkung des Coramins auf die höheren motorischen Zentren die Ursache für die geringere Weckwirkung ist.*

In weiteren Versuchen haben wir die Veränderung der therapeutischen Breite beider Analeptica unter dem Einfluß zweier Narkosemittel (Numal und Chloralose) genau festzulegen versucht. Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß der Unterschied zwischen beiden Analepticis ganz erheblich ist. Durch die Numalnarkose wird die intravenöse Cardiazolkrampfdosis um mehr als das 20fache, die subcutane um das 11fache erhöht. Die Coraminkrampfdosis steigt nur um das 3fache. Ähnlich liegen die Verhältnisse in der etwa gleich tiefen Chloralosenarkose. *Dadurch kommt es in der Narkose zu einer erheblichen Verschiebung im Krampfdosenverhältnis beider Stoffe im Vergleich zum normalen Tier.* Die Cardiazolkrampfdosen nähern sich den Coraminkrampfdosen bis zur Hälfte oder noch mehr, während sie am normalen Tier weniger als $^1/_7$ (intravenös) oder $^1/_8$ (subcutan) betragen. Bei einer Dosierung nach Maßgabe des normalen Krampfdosenverhältnisses am narkotisierten Tier ist danach die therapeutische Breite des Cardiazols um das Vielfache größer.

In der Literatur finden sich zahlenmäßig vergleichbare Angaben bei Kohn und Jakobi[2]. Sie finden bei Ratten durch Medinal die subcutane Cardiazolkrampfdosis um das 9—11fache, die Coraminkrampfdosis nur um das 2fache erhöht. Auf die größere therapeutische Breite des Cardiazols am narkotisierten Tier weist ferner auch Gros[3] hin.

Tabelle 2.

	Krampfdosis (mg/kg Kaninchen):		
	ohne Narkose	Chloralosenarkose 70 mg/kg i.v.	Numalnarkose 0,6 cm³ kg i.v.
Cardiazol			
a) intravenös	12 (26 Versuche)	150 (17 Versuche)	? (über 250) (3 Versuche)
b) subkutan	35 (10 Versuche)	? (über 200) (2 Versuche)	400 (5 Versuche)
Coramin			
a) intravenös	90 (10 Versuche)	200—300 (19 Versuche)	300 (4 Versuche)
b) subkutan	300 (nach HILDEBRANDT)	? (über 450) (3 Versuche)	900 (3 Versuche)

Die gute Weckwirkung und die große therapeutische Breite des Cardiazols lassen darauf schließen, daß dieser Stoff den Prädilektionsort seiner Wirkung in den höheren Abschnitten des Zentralnervensystems hat. Demgegenüber wäre der Schwerpunkt der Coraminwirkung in den weniger narkotisierten tieferen Abschnitten des Zentralnervensystems, vielleicht vornehmlich im Rückenmark zu suchen.

Diese Auffassung findet ihre Stütze in unsern Krampfversuchen an der nicht narkotisierten dekapitierten Katze (HAHN[4]). Es ergab sich, daß die intravenöse Krampfschwelle für Coramin am dekapitierten Tier nicht größer ist als am intakten Tier, daß dagegen die Krampfwirkung des Cardiazols durch das Dekapitieren herabgesetzt wird. Zur Erzielung gleicher Krampfwirkung am dekapitierten Tier muß die Cardiazoldosis erhöht werden, und zwar bis zur Hälfte der Coramindosis. *Wir finden also durch das Dekapitieren eine ähnliche Annäherung der Krampfdosen beider Stoffe, wie wir es am Ganztier in der Narkose beobachteten.* Nach unserer Meinung ist hier ein Zusammenhang vorhanden, da man das Narkotisieren bis zu einem gewissen Grade als eine Art „chemischer" Dekapitierung auffassen kann. Die Krampfwirkung beider Stoffe, also auch die des Cardiazols, würde danach in der Narkose in erster Linie ihren Ausgangspunkt im Rückenmark haben. Das Krampfdosenverhältnis in der Narkose würde das Verhältnis ihrer Rückenmarkswirkung zum Ausdruck bringen.

Am normalen Tier gehen die *Cardiazolkrämpfe dagegen nach unseren Beobachtungen am dekapitierten Tier zweifellos in erster Linie von supraspinalen Angriffspunkten aus*, da die Krampfwirkung des Cardiazols durch Dekapitieren absinkt.

Daß der Angriff des Cardiazols hauptsächlich gegen die höheren Abschnitte des Centralnervensystems gerichtet ist, geht auch aus den Untersuchungen von SCHOEN[5], WINNIWARTER[6], BERTHA[7], CAMP[8] hervor.

Für das Coramin ergibt sich aus unseren Befunden, daß es stärker als das Cardiazol auf das Rückenmark einwirkt. Aber der Befund, daß seine Krampfwirkung durch das Dekapitieren nicht abgeschwächt wird, läßt es noch unentschieden, ob es auf die höheren Abschnitte gleich stark wie auf die niederen einwirkt oder ob die niederen, d. h. vor allem das Rückenmark, stärker als die höheren Abschnitte erregt.

Da wir uns im Falle der Weckwirkung für die letztere Auffassung entschieden haben, liegt es nahe, das gleiche auch für die Krampfwirkung zu tun. Aber wir haben auch noch einen anderen Hinweis. Ähnlich wie in den Weckversuchen haben wir auch bei den Krampfstudien den Synergismus beider Stoffe untersucht. Die Überlegung war wieder die gleiche: Wenn das Coramin auf die höheren Zentren gleich stark wie auf die niederen wirkt, müßte es in der Lage sein, die vornehmlich von den höheren Zentren ausgehenden Cardiazolkrämpfe additiv zu verstärken. Liegt dagegen das Hauptgebiet der Coraminkrämpfe im Rückenmark, so müßte sich ein ausgesprochen unteradditiver Effekt ergeben.

Tabelle 3.

Kaninchen Nr.	Intravenöse Krampfdosis (mg/kg) von: Coramin allein	Cardiazol allein	Cardiazol in Kombination mit 60 mg/kg Coramin	Senkung der Cardiazolkrampfschwelle durch Coramin %
1	80	15	12	20
2	100	12	10	17
3	90	16	14	14
4	80	16	12	25
5	100	14	12	14
6	90	12	10	16
7	90	12	10	18
			Mittel	18

Das Letztere ist der Fall, wie die Tabelle 3 lehrt.

An jedem Tier wurde zunächst durch Testung in mehrtägigen Abständen auf 10% genau sowohl die intravenöse Cardiazolkrampfdosis als auch die Coraminkrampfdosis festgelegt. Alsdann erfolgte die Bestimmung der Cardiazolkrampfdosis bei gleichzeitiger Einverleibung von 60 mg/kg Coramin (das ist $^2/_3$ der mittleren Coraminkrampfdosis). Anschließend wurde gewöhnlich noch einmal die Cardiazolkrampfdosis allein bestimmt, um Veränderungen in der Reaktionslage des Tieres auszuschließen. Waren z. B. Gewöhnungseffekte eingetreten, so wurden unter Umständen die Kombinationsversuche noch einmal wiederholt.

Das Coramin war 25%ig, das Cardiazol 5%ig gelöst. Die Injektionsgeschwindigkeit war stets so eingestellt, daß das gesamte Injektionsgut in genau 10 Sek. eingespritzt war.

Das Ergebnis besagt, *daß im Mittel noch immer über 80% der Cardiazolkrampfdosis erforderlich sind trotz Zugabe von $^2/_3$ der Coraminkrampfdosis, um Krämpfe auszulösen.*

Es ist beachtenswert, daß sich dieses Ergebnis mit dem unteradditiven Synergismus beider Stoffe bei der Weckwirkung deckt.

Der Zusammenhang zwischen Krampf- und Weckwirkung wird dadurch unterstrichen.

In diesem Zusammenhang sind auch Versuche von Interesse, in denen wir den Synergismus zwischen Cardiazol und einem dem Cardiazol näher stehenden Krampfgift, nämlich dem Triazolderivat Azoman, untersucht haben. Diese Versuche wurden allerdings aus Tiermangel an Mäusen ausgeführt. Immerhin war bemerkenswert, daß hierbei ein rein additiver Effekt festgestellt wurde.

Nach diesem Ergebnis zweifeln wir nicht daran, *daß der Schwerpunkt der Coraminkrampfwirkung in einen andern Abschnitt des Zentralnervensystems zu verlegen ist als der Schwerpunkt der Cardiazolkrämpfe, nämlich vornehmlich ins Rückenmark.* Die geringe Weckwirkung des Coramins, die auffällige Resistenz seiner Krampfwirkung gegenüber Narkosemitteln einerseits und dem Eingriff der Dekapitierung andererseits, der mangelhafte Synergismus mit dem sicher hauptsächlich an den höheren Hirnabschnitten angreifenden Cardiazol fügen sich so zu einem einheitlichen Bilde. In diesem erscheinen die „Krampfzentren" beider Analeptika gewissermaßen polar auf die beiden großen Abschnitte des Zentralnervensystems verteilt.

Weitere Stützen dieser Annahme, die zunächst nur für die motorischen Funktionen abgeleitet wurde, werden sich auch aus den vegetativen Wirkungen beider Analeptika ergeben, wie noch zu zeigen sein wird. Schon früher sind Kohn und Jakobi[2] lediglich auf Grund des äußeren Erscheinungsbildes der Cardiazol- und Coraminkrämpfe bei Ratten zu einem ähnlichen Ergebnis gekommen. Sie sprechen den Cardiazolkrämpfen einen mehr zerebralen und den Coraminkrämpfen einen spinal-reflektorischen Charakter zu. Auch bei Kaninchen ist, wie nicht anders zu erwarten, das Erscheinungsbild beider Krampfformen nicht identisch, ohne daß sich aber hieraus die angedeutete Schlußfolgerung ziehen hieße. Eher müßte man zu dem gegenteiligen Ergebnis kommen, da die ausgesprochen tetanische Phase den Coraminkrämpfen fehlt. Diese haben einen mehr klonischen Charakter.

Diesem Umstand hat Lendle[9] Rechnung getragen und die unserem Standpunkt entgegengesetzte Auffassung vertreten, daß gerade an den Cardiazolkrämpfen das Rückenmark besonders beteiligt sei. Sein Hauptargument dabei ist allerdings der von ihm festgestellte Synergismus zwischen Cardiazol und Morphin, den er zwischen Coramin und Morphin vermißte.

Da hier offenbar die strychninartige Morphinwirkung zur Diskussion steht, mußte sich die gleiche Frage auch mit Strychnin selbst prüfen lassen. Wir haben solche Versuche über den Synergismus von Cardiazol und Coramin mit Strychnin an Kaninchen ausgeführt.

Versuchsanordnung: Nachdem festgestellt war, daß die minimale krampferzeugende Dosis des Strychninnitrates bei 0,2 mg/kg liegt, wurde in allen Versuchen die Hälfte dieses Dosis intravenös gegeben. 1 Min. später wurde

gleichfalls intravenös Cardiazol bzw. Coramin injiziert. Die Dosierung wechselte an den einzelnen Versuchstagen bis zur exakten Festlegung der Krampfschwelle. Vorher und manchmal auch noch nachher wurde die Krampfdosis für Cardiazol und Coramin an den einzelnen Tieren für sich allein bestimmt. Zwischen den Versuchstagen lagen 4—8 Tage. Die Injektionsgeschwindigkeit betrug wieder 3 Sek. Die Versuche erstreckten sich auf 14 Kaninchen.

An dem Ergebnis (Tabelle 4) ist bemerkenswert, daß abweichend von dem Verhalten, wie es LENDLE für das Morphin festgestellt hat, sowohl Coramin als auch Cardiazol einen unteradditiven Synergismus mit Strychnin aufweisen. Die Krämpfe, die dabei auftraten, waren meist vom Typus der Strychninkrämpfe. Was uns aber überraschte, war das Fehlen eines nennenswerten Unterschiedes im Verhalten von Cardiazol und Coramin im Hinblick auf die synergistischen Beziehungen zum Strychnin. Die Befunde sprechen weder für die Auffassung von LENDLE noch geben sie unserer Meinung von der stärkeren Rückenmarkswirkung des Coramins eine Stütze.

Tabelle 4.

Kaninchen Nr.	Intravenöse Krampfdosis (mg/kg) von Cardiazol bzw. Coramin: allein	Intravenöse Krampfdosis (mg/kg) von Cardiazol bzw. Coramin: nach intravenöser Injektion von 0,1 mg/kg Strychninnitrat	Senkung der Krampfschwelle durch Strychnin %
	a) Cardiazol		
1	9,0	7,5	17
2	12,5	9,5	24
3	10,0	6,5	33
4	15,0	12,0	20
5	19,0	14,0	26
6	15,0	9.0	40
		Mittel	27
	b) Coramin		
7	100	60	40
8	130	80	38
9	90	55	40
10	90	65	30
11	90	70	20
12	70	47	33
13	85	70	18
14	80	55	31
		Mittel	31

Den Schlüssel zum Verständnis dieses auffallenden Befundes glauben wir aber in den wichtigen Untersuchungen von KOLL[10] gefunden zu haben. KOLL hat bei seinen Untersuchungen über die Lokalisation der Angriffspunkte von Cardiazol, Coramin und Strychnin nachweisen können, daß innerhalb des Reflexbogens im Rückenmark offenbar für die drei Krampfgifte verschiedene Zellelemente als Angriffspunkte in Frage kommen. Dabei ergab sich der für uns wichtige Befund, daß der Synergismus zwischen Cardiazol und Strychnin am isolierten Rückenmark stärker ausgeprägt war als zwischen Coramin und Strychnin. Überträgt man diese Beobachtung auf das Ganztier, so wäre verständlich, daß das Cardiazol trotz seiner im ganzen geringeren Rückenmarkswirkung doch in Bezug auf seinen Synergismus mit Strychnin nicht wesentlich schlechter abschneidet als das Coramin.

Daß sich die Angriffspunkte von Cardiazol und Coramin innerhalb des Rückenmarks nicht decken, geht auch aus eigenen früheren Beobachtungen hervor. Wir (HAHN[4]) fanden nämlich, daß sich die Wirkung des Cardiazols aufs isolierte Rückenmark der Katze durch Narkose leichter aufheben läßt als diejenige des Coramins.

Zusammenfassende Besprechung.

Zusammenfassend glauben wir den Ariadnefaden in dem Labyrinth der Pharmakologie beider Analeptika darin gefunden zu haben, daß *das Cardiazol stärker auf die höheren, das Coramin stärker auf die niederen Abschnitte des Zentralnervensystems einwirkt.* Diese zunächst nur für das motorische Gebiet abgeleitete Erscheinung findet ihre Stütze auf vegetativem Gebiet. Von früheren Beobachtungen (HAHN[1]) sei die Kühlwirkung des Cardiazols erwähnt, die als eine Umstellung der zentralen Wärmeregulation aufgefaßt werden muß und somit wieder auf übergeordnete Zentren als Angriffsorte hindeutet. Die Wirkung verschwindet in der Narkose. Nach neueren Untersuchungen von uns scheint eine Verwandtschaft zu der temperatursenkenden Wirkung des Pyramidons zu bestehen. Das Coramin hat dagegen eine temperatursteigernde Wirkung, die wahrscheinlich durch Reizung niederer motorischer Zentren zustande kommt und charakteristischer Weise in der Narkose durch mäßige Dosiserhöhung wieder in Erscheinung tritt. Auch die von uns (HAHN[4]) beschriebene stärkere Wirkung des Coramins auf die akzessorischen vasomotorischen Zentren im Rückenmark ist hier zu erwähnen. Weitere Tatsachen werden die folgenden Mitteilungen bringen.

Wir übersehen nicht, daß sich auch innerhalb eines Hauptabschnittes des Zentralnervensystems noch Differenzen in den Angriffspunkten von Cardiazol und Coramin an der Feinstruktur der nervösen Elemente finden können. KOLL[10] hat dies für den Reflexbogen im Rückenmark nachgewiesen. Vielleicht lassen sich beide Betrachtungsweisen derart vereinigen, daß man für die differenten feineren Substrate der Cardiazol- und Coraminwirkung eine ungleiche Verteilung auf die großen Abschnitte des Zentralnervensystems annimmt. Eine Brücke vermag vielleicht unsere Beobachtung zu schlagen, daß die Angriffspunkte des Cardiazols innerhalb des Rückenmarks leichter zu narkotisieren sind als die des Coramins. Nimmt man an, daß Cardiazol allgemein die leicht narkotisierbaren Elemente bevorzugt, so läßt sich vielleicht einmal ein Schema für die Verteilung seiner Wirkung aufstellen, in dem naturgemäß die höheren, leichter narkotisierbaren Abschnitte einen größeren Raum einnehmen müssen. Es wäre also eine bestimmte, wohl chemisch-physikalische oder chemische Eigenschaft einer bestimmten Art von nervösen Einzelelementen, die diese für die Cardiazolwirkung empfänglich macht und die besondere Verteilung seiner Wirkung im gesamten Zentralnervensystem erklärt.

Für das Coramin dagegen ist auffallend, daß es auch auf vegetativem Gebiet, wie noch zu zeigen sein wird, schwerer narkotisierbare Elemente des Zentralnerven-

systems bevorzugt. Auffallend und gleichfalls hierhin gehörig ist auch die Tatsache, daß das Coramin mehr periphere Angriffspunkte hat (vgl. die folgende Mitteilung, ferner Zinnitz und von Bergmann[11]).

Auf Grund unserer Betrachtungsweise haben wir folgende für die praktische Anwendung wichtigen Tatsachen deuten können: die bessere Weckwirkung des Cardiazols und seine größere therapeutische Breite beim narkotisierten Tier. Von praktischer Bedeutung, und zwar für die vielfach geübte gleichzeitige Anwendung beider Stoffe, ist ferner der geringe Synergismus der Krampfwirkung von Coramin und Cardiazol Die Kombination beider Mittel am Krankenbett verdient wegen der Verschiedenartigkeit der Angriffspunkte beider Stoffe vielleicht eine breitere Anwendung und ist somit mehr als eine unnütze therapeutische Polypragmasie.

Kehren wir zur Ausgangsfrage zurück, welche Zentren bei Einhaltung des normalen Krampfdosenverhältnisses stärker auf Cardiazol und welche stärker auf Coramin ansprechen, so ergibt sich die wichtige Feststellung, *daß in dem Krampfdosenverhältnis beider Stoffe keineswegs die Wirkungsstärke beider Stoffe an einem bestimmten Zentrum zum Ausdruck zu kommen braucht.* Dies gilt zunächst für die Krampfwirkung selbst. Nach unseren Befunden muß man annehmen, daß die äquieffektiven Dosen am Rückenmark näher zusammen und an den höheren motorischen Zentren weiter auseinanderliegen als die den Bruttoeffekt am Ganztier wiedergebenden Krampfdosen. Es wird die Aufgabe der folgenden Mitteilungen sein, zu zeigen, inwieweit dies auch für andere Gebiete des Zentralnervensystems zutrifft.

Zusammenfassung.

1. Es wird die Forderung nach einer umfassenden vergleichenden Pharmakologie von Cardiazol und Coramin erhoben. Diese ist bei einem bestimmten Dosenverhältnis, nämlich dem Verhältnis der normalen Krampfdosen, vorzunehmen. Auf dieser Basis wird zunächst eine Studie der Weck- und Krampfwirkung beider Stoffe mitgeteilt.

2. Das Coramin hat am narkotisierten Tier eine geringere Weckwirkung und eine geringere therapeutische Breite als das Cardiazol. Letztere beruht auf einer Verschiebung im Krampfdosenverhältnis beider Stoffe durch die Narkose, für die zahlenmäßige Belege gegeben werden.

3. Das Coramin bewirkt bei höherer Dosierung durch lähmende Eigenschaften eine Narkoseverlängerung. Aber auch kleine Dosen, die diese Wirkung nicht haben, weisen im Weckversuch einen mangelhaften Synergismus mit Cardiazol auf.

4. Der Unterschied in der Weckwirkung beruht auf der stärkeren Wirkung des Cardiazols auf die höheren motorischen Zentren. Der Unterschied in der therapeutischen Breite deutet auf eine größere Wirkung des Coramins auf das weniger narkotisierbare Rückenmark hin.

5. Durch Krampfversuche am nicht narkotisierten Rückenmark ergab sich schon früher eine Stütze für die stärkere Rückenmarkswirkung des Coramins im Vergleich zum Cardiazol.

6. Durch die gleichen Versuche wurde auch der Schwerpunkt der Cardiazolwirkung auf die höheren Hirnabschnitte verlegt.

7. Die Kombination von Cardiazol und Coramin wirkt auch in bezug auf die Krampfwirkung am nicht narkotisierten Tier ausgesprochen unteradditiv. Auch dieser Befund wird im Sinne einer geringeren Wirkung des Coramins auf die höheren Abschnitte des Zentralnervensystems ausgelegt.

8. Die Krampfwirkung des Strychnins wird durch Coramin und Cardiazol in etwa gleichem Maße, und zwar unteradditiv verstärkt. Es wird eine Deutung gegeben, die es erlaubt, diesen Befund in Übereinstimmung mit der Annahme einer stärkeren Rückenmarkswirkung des Coramins zu bringen.

9. Die Auffassung, daß das Cardiazol den Schwerpunkt seiner Wirkung in den höheren, das Coramin in den niederen Abschnitten des Zentralnervensystems (insbesondere im Rückenmark) hat, scheint von allgemeiner Bedeutung für das Verständnis der Pharmakologie beider Stoffe zu sein.

Nachtrag.

Inzwischen sind meine früheren Untersuchungen[4] an dekapitierten Katzen offenbar weitgehend bestätigt worden. In einer, mir jetzt erst zugänglichen Arbeit berichten J. Ten-Cate und D. W. Swijgman*, daß das Coramin hauptsächlich auf das Rückenmark wirkt. Der Prädilektionsort der Cardiazolkrämpfe wird in die motorische Hirnrinde, also jedenfalls auch in die höheren Abschnitte des Zentralnervensystems, verlegt. Leider haben die Autoren meine Befunde und Folgerungen in so entstellender Weise wiedergegeben, daß der Leser nicht den Eindruck der grundsätzlichen Übereinstimmung bekommt. Diese Art der Zitierung fremder Literatur verdient schärfste Zurückweisung. Auf Einzelheiten soll hier nicht eingegangen werden.

Literatur.

[1] Hahn, F.: Arch. exper. Path. (D.) **202**, 165 (1943). — [2] Kohn, R. u. M. Jakobi: Arch. exper. Path. (D.) **179**, 448 (1935). — [3] Gros, O.: Arch. exper. Path. (D.) **180**, 258 (1936). — [4] Hahn, F.: Arch. exper. Path. (D.) **198**, 509 (1941). — [5] Schoen, R.: Arch. exper. Path. (D.) **113**, 257 (1926). — [6] Winniwarter, Fr: Arch. exper. Path. (D.) **185**, 95 (1937). — [7] Bertha: Ber. Physiol. **42**, 576 (1928). — [8] Camp, W. J. R.: J. Pharmacol. (Am.) **33**, 81 (1928). — [9] Lendle, L.: Arch. exper. Path. (D.) **181**, 408 (1936). — [10] Koll, W.: Arch. exper. Path. (D.) **184**, 365 (1937). [11] Zinnitz, F. u. F. von Bergmann: Arch. exper. Path. (D.) **181**, 335 (1936).

* Ten-Cate, J. u. D. W. Swijgman: Arch. internat. Pharmacodynam. **70**, 293 (1945).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Weese).

Untersuchungen über die Angriffspunkte von Cardiazol und Coramin.

II. Über die Blutdruckwirkung.

Von

Fritz Hahn und Kurt Simon.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Dezember 1947.)

Die Ergebnisse der ersten Mitteilung gestatten noch nicht, zur Frage etwaiger Sondervorzüge des Coramins gegenüber Cardiazol Stellung zu nehmen. Seine stärkere Affinität zu den niederen Abschnitten des Zentralnervensystems würde erst dann in diesem Sinne zu verwerten sein, wenn sich feststellen ließe, daß sie auch die Medulla oblongata miterfaßt. Diese Frage muß getrennt für die Atem- und Blutdruckwirkung untersucht werden. Wir besprechen in dieser Mitteilung die Blutdruckwirkung. Die Frage ist die gleiche wie in der vorausgehenden Arbeit: Ob das Verhältnis der Krampfdosen von Cardiazol und Coramin auch in bezug auf die Blutdruckwirkung beider Stoffe äquivalent ist oder ob das zur Erzielung gleicher Blutdruckwirkung notwendige Dosenverhältnis von dem Verhältnis der Krampfdosen abweicht.

Wir haben die gleiche Frage schon früher in Katzenversuchen für andere Analeptika beantworten können (Hahn[1]). Ein Vergleich zwischen Cardiazol und Coramin war dagegen nicht möglich, weil sich bei der Katze die Coraminwirkung als stark durchsetzt mit blutdrucksenkenden Effekten erwies. Die im folgenden zu besprechenden Versuche an Kaninchen hatten dagegen den gewünschten Erfolg.

Gleichzeitig wird auch ein Beitrag zur Analyse der blutdrucksenkenden Coraminwirkung gegeben werden. Wir verlegten die in Betracht kommenden Angriffspunkte zunächst hauptsächlich in die Peripherie, da bei der Katze die Blutdrucksenkung durch Coramin auch nach Vagusdurchtrennung und Ausschaltung der Pressorezeptoren in Erscheinung trat.

1. Die blutdrucksteigernde Wirkung von Cardiazol und Coramin.

Drei der folgenden Kaninchenversuche wurden mit Chloralosenarkose (70 mg je Kilogramm Chloralose) ausgeführt. Um festzustellen, ob sich durch die Narkose, ähnlich wie es bei der Krampfwirkung der Fall ist, das Verhältnis der blutdruckwirksamen Dosen verschiebt,

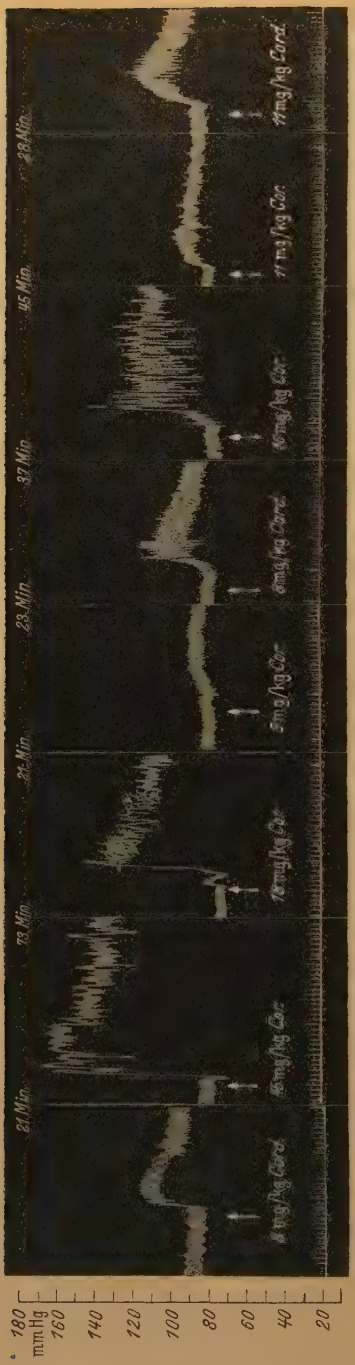


Abb. 1. Kaninchen 2,2 kg ♂. Blutdruckwirkung von Cardiazol und Coramin. Curare. Zeit: 10 Sek.

wurden drei weitere Versuche ohne Narkose durchgeführt. Lediglich für die Präparation der Tiere diente eine vorübergehende leichte Äthernarkose. In allen Versuchen wurde zur Ausschaltung der Motorik und zur Verhinderung von Krämpfen wiederholt Kurare injiziert.

Die Blutdruckmessung erfolgte von der Karotis aus. Verhinderung der Blutgerinnung mittels Gegeninfusion von Sodalösung. Künstliche Atmung. Keine Vagotomie, keine Ausschaltung der Pressorezeptoren.

Die Zufuhr der Analeptika erfolgte intravenös mit einer Gesamtinjektionsgeschwindigkeit von 3 Sek. Die Pausen zwischen den Injektionen wurden so groß gehalten, daß mit Sicherheit mit einer Zerstörung der vorausgegangenen Dosen zu rechnen war. Hildebrandt und Mügge[2] haben für das Cardiazol eine Zerstörungsgeschwindigkeit von 0,85 mg/kg je Minute und für das Coramin von 2 mg/kg je Minute festgestellt. Wir haben diese Angaben bei der Bemessung der Versuchspausen zugrunde gelegt, hielten sie aber meist noch größer, als der Berechnung entsprach.

Der Ausschnitt aus einem Originalversuch (ohne Chloralosenarkose) in Abb. 1 läßt zunächst erkennen, daß auch das Coramin beim Kaninchen eine reine Blutdrucksteigerung bewirkt. Die Bestimmung des Wirkungsverhältnisses von Cardiazol und Coramin ist daher hier ziemlich genau möglich. Dieses entspricht nun, wie der Versuch weiterhin erkennen läßt, keineswegs dem Verhältnis der Krampfwirkung beider Stoffe. Während am Ganztier zur Erzielung gleicher Krampfwirkung das Coramin $7^1/_2$mal höher dosiert werden muß, ersieht man aus dem abgebildeten Blutdruckversuch, daß

eine nur doppelt so hohe Coramindosis noch stärker auf den Blutdruck wirkt als das Cardiazol.

In analoger Weise sind sämtliche 6 Versuche ausgeführt worden. Sie sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Übereinstimmend zeigen sie, daß das Verhältnis äquieffektiver Blutdruckdosen von Cardiazol und Coramin erheblich von dem Krampfdosenverhältnis, welches 1:7,5 beträgt, zugunsten einer stärkeren Blutdruckwirkung des Coramins abweicht. Es schwankt etwa zwischen 1:1½ bis 1:3. Ein Einfluß der Narkose ließ sich nicht feststellen. Auch ein weiterer Versuch mit Urethannarkose (1 g Urethan je Kilogramm) fiel entsprechend aus.

Wir müssen damit feststellen, *daß das Coramin eine größere Affinität zum Vasomotorenzentrum besitzt als das Cardiazol, vorausgesetzt, daß nach Maßgabe des normalen Krampfdosenverhältnisses dosiert wird.*

Tabelle 1. *Blutdruckwirkung von Cardiazol und Coramin beim Kaninchen.*

Kaninchen Nr.	Gewicht kg	Cardiazol mg/kg	Coramin (mg/kg)	Blutdruck-steigerung (mm Hg)	Verhältnis äquieffektiver Blutdruck-dosen von Cardiazol-Coramin
1	3,45	11	—	22, 28, 26	1:2
		22	—	32	
	Chloralosenarkose	—	40	49, 49	
		—	80	76, 98	
2	2,2	11	—	32	1:3
		18	—	58, 36, 48	
	Chloralosenarkose	—	34	36	
		—	68	60, 64, 74	
3	2,8	7	—	(—28)	1:2½
		9	—	(—28)	
	Chloralosenarkose	18	—	44	
		—	25	24, 27, 26, 30	
		—	50	48	
4	2,2	4	—	20	1:1½—2½
		8	—	34, 28	
		11	—	40	
		—	9	10	
	Keine Narkose	—	11	21	
		—	16	34	
		—	18	54	
		—	22	64	
		—	45	91	
5	1,9	8	—	18, 20	1:3
	Keine Narkose	—	28	54, 50	
6	1,7	7	—	24	etwas unter 1:3
		9	—	27	
	Keine Narkose	—	22	15, 20	
		—	45	52	

Unter diesen Bedingungen ist der Unterschied in den Blutdruckeffekten unter Umständen recht groß. Die Coraminwirkung kann das Mehrfache der Blutdruckausschläge unter Cardiazol betragen.

So ergibt z. B. der Versuch 1 in Tabelle 1, daß mit 11 mg Cardiazol eine Blutdrucksteigerung von 22—28 mm Hg, mit 80 mg Coramin eine solche von 76 bis 98 mm erzielt wurde. Beide Dosen stehen im Verhältnis der Krampfdosen. Der Blutdruckeffekt unter Coramin ist rund $3^1/_2$mal so hoch wie unter Cardiazol. Zur Auswertung der Tabelle sei bemerkt, daß wir die erzielten Blutdrucksteigerungen so wiedergegeben haben, daß der gemessene höchste Blutdruckwert bei den einzelnen Testen in Beziehung zu einem einheitlichen Grundwert als Ausgangshöhe gesetzt wurde. Dieses Vorgehen erschien uns als das richtige, weil die Blutdruckausschläge unter Analeptikawirkung sehr von der Höhe des Ausgangsblutdruckes abhängen. Die Schwankungen im Ausgangsblutdruck waren allerdings in unsern Versuchen nicht groß. Berechnete man daher die erzielten Blutdruckeffekte aus den absoluten Differenzen von Ausgangsblutdruck und erzieltem Höchsteffekt, so ergab sich daraus das gleiche Bild.

Als Schwellendosis für die Blutdruckwirkung fanden wir 5 mg je Kilogramm Cardiazol und 9 mg je Kilogramm Coramin. Das ist für das Cardiazol knapp die Hälfte, für das Coramin $^1/_{10}$ der Krampfdosen am nichtnarkotisierten Tier. In der Narkose verändern sich diese Beziehungen zugunsten des Cardiazols durch die in der vorigen Mitteilung beschriebene Verschiebung des Krampfdosenverhältnisses von Cardiazol und Coramin.

Gelegentlich erwies sich beim Kaninchen im Gegensatz zu den Katzenversuchen nicht das Coramin, sondern das Cardiazol als leicht blutdrucksenkend (vgl. Tabelle 1). Während aber der senkende Coramineffekt an der Katze auch nach Vagusausschaltung vorhanden war und mit zunehmender Dosis immer stärker wurde, verschwand die blutdrucksenkende Wirkung des Cardiazols am Kaninchen bei hohen Dosen oder nach Vagusausschaltung. Es liegt also hier ein Vaguseffekt vor.

2. Versuche über die blutdrucksenkende Coraminwirkung.

Daß die starke blutdrucksenkende Wirkung, die wir mit Coramin bei der Katze beobachteten, als peripher bedingt anzusehen ist, wird neuerdings durch Myers[3] auf Grund von Versuchen an den durchströmten Hinterextremitäten von Katzen angegeben. Ähnlich kann auch der Befund von Massart[4] gedeutet werden, der (allerdings am Hund) nach Injektion von Coramin in die Arteria cruralis eine Gefäßerweiterung sah. Stoland und Ginsberg[5] bezeichnen das Coramin im Gegensatz zum Cardiazol als allgemein gefäßerweiterndes Mittel. Besonders an den Coronargefäßen scheint das Coramin erweiternd zu wirken. Diese Wirkung wird sogar beim Kaninchen beobachtet, während sonst nach unseren Blutdruckversuchen die Gefäßerweiterung keine große Rolle beim Kaninchen spielen kann. Die Coronarwirkung durch Coramin ist von mehreren Autoren an verschiedenen Tierarten festgestellt worden (Stoland und Ginsberg[5], Greene[6], Essex und

Wégria[7], Uhlmann und Nobile[8], Meier und Müller[9], Müller[10], Bloch[11], Cowan[12], Elek und Katz[13]).

Durchströmungsversuche an isolierten, von der Gefäßnervenversorgung abgeschnittenen Gefäßen sind zum Nachweis gefäßerweiternder Wirkungen wenig geeignet. Es überrascht daher auch nicht, daß die Ergebnisse solcher Versuche durchaus widersprechend sind. Es wurden hierbei wiederholt auch Gefäßverengerungen durch Coramin erzielt oder Gefäßerweiterungen erst mit sinnlos hohen Dosen. So fand z. B. Uhlmann[14] erst mit Coramindosen von 1:100 eine Gefäßdilatation.

Auch wir haben uns von der Unbrauchbarkeit der Durchströmungsversuche mit tonuslosen Gefäßpräparaten überzeugen können. Wir durchströmten die isolierte hintere Körperhälfte der Ratte von der Aorta aus mit Ringerlösung. Konzentrationen von 1:10000 bis 1:100 waren meist wirkungslos. In höheren Konzentrationen bewirkte das Coramin bald leichte Verengerung, bald leichte Erweiterung. In entsprechenden Cardiazolversuchen mit Konzentrationen von 1:20000 bis 1:50 wurden ebensooft Erhöhung wie Verminderung der Durchflußgröße erreicht.

Wir versuchten hierauf noch eine Annäherung an die physiologischen Bedingungen, indem wir mit Hilfe einer Adrenalindauerdurchströmung einen erhöhten Ausgangstonus der Gefäße herstellten. Die gesuchte gefäßerweiternde Coraminwirkung wurde auch so nicht erfaßt. Selbst in den hohen Konzentrationen von 1:200 bis 1:50 überwogen sogar jetzt eher gefäßverengernde Wirkungen, und zwar beim Coramin wie auch beim Cardiazol.

An den Durchströmungspräparaten ist also eine Gefäßerweiterung unter Coramin nicht sicher zu erfassen. Zum mindesten traten ebensooft vasopressorische Effekte in Erscheinung. Nur in den schon erwähnten Versuchen von Myers an der Katzenpfote scheint sich die gefäßerweiternde Wirkungskomponente des Coramins im Bereich kleinerer Dosen deutlich von dergegenteiligen Wirkung höherer Dosen abzuheben. Eine endgültige Klärung ist vielleicht nur von Versuchen zu erwarten, die die Durchblutungsgröße an den einzelnen Gefäßgebieten des intakten Tieres erfassen. Solche Versuche sind von uns zur Zeit nicht durchführbar.

Dennoch war es uns zuletzt möglich, an einem sehr einfachen Versuchsobjekt, nämlich dem isolierten Karotisstreifen des Rindes, einen Befund zu erheben, der uns einen in die Peripherie zu verlegenden Wirkungsmechanismus des Coramins an der Gefäßwand kennengelehrt hat. Dieser könnte durchaus zum Verständnis der blutdrucksenkenden Coraminwirkung beitragen.

An diesem Präparat konnten wir mit Coraminkonzentrationen von 1:1500 aufwärts an Erschlaffung erzielen. Ganz entsprechend unserer Erwartung war das Cardiazol viel weniger wirksam. Die Grenzkonzentration lag hier bei 1:450, also über dreimal höher. Es scheint uns doch recht bemerkenswert, daß sich dieses an sich auch tonuslose Gefäßpräparat so sehr viel besser als die Durchströmungspräparate zum Nachweis von Dilatationswirkungen eignet. Kontraktionen des Gefäßstreifens wurden unter Coramin und Cardiazol nicht beobachtet.

Nun liegen allerdings die Konzentrationen noch sehr hoch. Aber wir fanden schließlich eine Reaktion, die diesem Einwand nicht mehr

begegnen kann. Sie besteht darin, daß man die in einem Coramin- oder Cardiazol-Ringerbad suspensierten Gefäßstreifen auf ihre Adrenalinempfindlichkeit prüft. Dabei ergab sich, *daß Coraminkonzentrationen, die rund um eine Zehnerpotenz niedriger lagen als die selbständig lähmende Konzentration, die Adrenalinempfindlichkeit der Gefäßwand herabsetzten.* Das Cardiazol hatte zwar grundsätzlich die gleiche Wirkung, aber in geringem Ausmaße. Die Grenzkonzentration lag für Coramin unter 1:15000, die von Cardiazol bei 1:6000.

Ein Versuchsbeispiel möge das Gesagte erläutern (Abb. 2). Zunächst Feststellung der Adrenalinempfindlichkeit des unbeeinflußten Präparates. Dann Zugabe von Cardiazol zum Ringerbad. Danach nahezu der gleiche Adrenalinausschlag. Nach Auswaschen des Cardiazols erneute Prüfung der Adrenalinempfindlichkeit. Jetzt Coraminzusatz in dem Fünffachen der Cardiazolmenge, wie es etwa

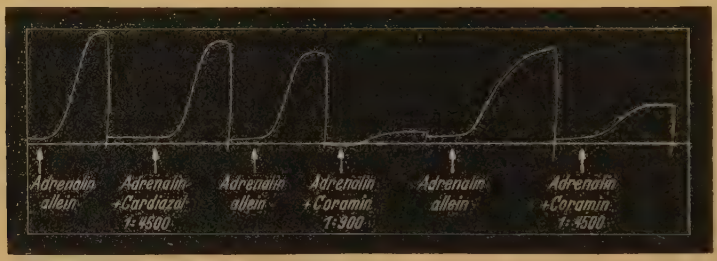


Abb. 2. Isolierter Rinderkarotisstreifen. Wirkung von Adrenalin 1 : 7500000 mit oder ohne gleichzeitige Anwesenheit von Coramin bzw. Cardiazol.

dem klinisch üblichen Verhältnis der therapeutischen Dosis entspricht. Die Adrenalinwirkung ist jetzt auf ein Minimum reduziert. Aber auch in einer dem Cardiazol gleichen Menge vermindert Coramin die Adrenalinempfindlichkeit noch um mehr als die Hälfte (letzter Teil des Versuches).

So bewirken also Konzentrationen, die noch keine sichtbare Tonusänderung am Gefäßstreifen auslösen, bereits eine deutliche Veränderung in der Reaktionsbereitschaft der Gefäßwand gegenüber Adrenalin. Die niedrigen Coraminkonzentrationen lassen es möglich erscheinen, daß dieser Mechanismus auch am Ganztier wirksam werden könnte. Damit ist es uns gelungen, zumindest einen Teilfaktor der blutdrucksenkenden Coraminwirkung zu erfassen und ihn in die Peripherie zu lokalisieren. Der Unterschied zwischen Cardiazol und Coramin tritt dabei deutlich zutage, wie es auf Grund der Versuche am Ganztier zu erwarten war. Das Cardiazol ist etwa $2^1/_2$mal schwächer wirksam als das Coramin, je Gewichtseinheit gerechnet. Da aber das Coramin nach Maßgabe des Krampfdosenverhältnisses mehrfach höher dosiert werden muß als das Cardiazol, so tritt die Bedeutung des adrenalinantagonistischen Mechanismus beim Coramin erst recht in Erscheinung.

Besprechung der Ergebnisse.

Wir glauben, daß uns die vorliegende Arbeit in zweifacher Richtung weitergebracht hat. Zunächst einmal ist es uns gelungen, Klarheit

über die therapeutisch wichtige erregende Wirkung beider Analeptika auf das Vasomotorenzentrum zu gewinnen. Das Coramin schneidet hierbei eindeutig günstiger ab als das Cardiazol.

Mit dem Ergebnis dieser Blutdruckversuche unterstreichen wir die bereits in der vorausgehenden Mitteilung gezogene Schlußfolgerung, daß das Verhältnis der Krampfwirkung beider Analeptika keineswegs ein Maß für die Wirkungsstärke an einem bestimmten Angriffspunkt ist. Vielmehr liegen die äquieffektiven Dosen am Vasomotorenzentrum wesentlich näher zusammen als es die Krampfdosen beider Stoffe am Ganztier tun. Der gleiche Befund wurde von uns (Hahn[1]) für die Krampfwirkung am isolierten Rückenmark erhoben. Es ist interessant, daß Eichler[15] auch für die Atemwirkung von Cardiazol und Coramin ein Dosenverhältnis angibt, das dem Blutdruckdosenverhältnis etwa entspricht. Er fand nähmlich, daß zur Erzielung gleicher Atemwirkung die doppelte Coramindosis nötig ist. Es scheint also, daß in den Kreis der vom Coramin bevorzugten Abschnitte des Zentralnervensystems außer dem Rückenmark auch die benachbarte Medulla oblongata mit ihren lebenswichtigen Zentren einzubeziehen ist.

Ein Blick auf das Verhalten anderer Analeptika lehrt uns, daß das Verhalten des Coramins keineswegs die Regel ist. Vielmehr fanden wir an der Katze für verschiedene Analeptika (Azoman, Pikrotoxin, Hexeton), daß ihre Blutdruckwirkung mit der des Cardiazols übereinstimmt — wieder unter der Voraussetzung, daß die Dosen im Verhältnis der Krampfdosen gegenübergestellt wurden. Nur das Koffein kann mit dem Coramin verglichen werden. Aus der Reihe, aber nach der Seite der schwächeren Blutdruckwirkung hin, fiel ferner das Strychnin. Durch systematische Untersuchungen dieser Art muß sich einmal eine Abstufung der Analeptika nach ihrer Blutdruckwirkung ergeben, die sicher von praktischer Bedeutung ist.

Die größere Wirkung des Coramins auf die niederen Abschnitte des Zentralnervensystems verleiht ihm durch die Einbeziehung der Medulla zweifellos einen Vorzug gegenüber dem Cardiazol, der sich auf gewissen Gebieten günstig auswirken könnte. Ein Ausgleich der schwächeren Blutdruckwirkung des Cardiazols durch Dosenvergrößerung ist gefahrlos nur in der Narkose möglich, wo das Cardiazol die größere therapeutische Breite besitzt (s. vorhergehende Mitteilung). Bei Kollapszuständen anderer Genese könnte aber das Coramin den Vorzug verdienen.

Das zweite Charakteristikum der Coraminwirkung ist die größere Beteiligung der Peripherie. Hierauf, insbesondere auf Herz- und Coronargefäßwirkung, wird auch in jüngster Zeit wieder großer Wert gelegt. Die wirkliche Bedeutung dieser Angelegenheit für die Praxis ist sicher noch ungeklärt. Wir selbst haben in dieser Arbeit einen

Beitrag zur Entstehung der blutdrucksenkenden, d. h. gefäßerweiternden Coraminwirkung liefern können.

Ob auch peripher gefäßverengernde Wirkungen, wie sie vor Jahren von Uhlmann [14] am Kaninchenohr und neuerdings Myers [3] an der Katzenpfote nachweisen konnte, am intakten Tier eine Rolle spielen, bleibt noch fraglich. Jedenfalls sind bei einer genaueren Analyse der Kreislaufwirkungen von Cardiazol und Coramin noch interessante Unterschiede zu erwarten. Erfolgversprechend erscheint hier die Methode von Wezler und Böger zur Erfassung von Veränderungen in den dynamischen Größen, wie peripherer Widerstand, Gefäßelastizität, Schlagvolumen. Wir hoffen, über solche Versuche bald berichten zu können.

Durch diese Versuche ist aber nicht ausgeschlossen, daß für die blutdrucksenkende Wirkung des Coramins an Katzen auch ein zentraler Mechanismus in Frage kommt. Neuere Untersuchungen von uns haben ergeben, daß dies tatsächlich der Fall ist. Es handelt sich dabei nicht um eine Vaguswirkung. In diesen Versuchen haben wir die Einwirkung von Cardiazol und Coramin auf die Hirnzentren direkt zu erfassen versucht, indem wir mit spezieller Technik bei erhaltener Blutzirkulation die Analeptika in die Carotis interna und in die Arteria vertebralis injizierten. Vergleichsweise wurden auch Injektionen in ein anderes Arteriengebiet (Femoralis) vorgenommen. Über das Ergebnis dieser Versuche, die noch auf andere Analeptika ausgedehnt werden sollen, wird in einer weiteren Arbeit berichtet werden.

Zusammenfassung.

1. Im Gegensatz zur Katze hat das Coramin beim Kaninchen eine reine blutdrucksteigernde Wirkung.

2. Das Verhältnis der blutdrucksteigernden Dosen von Cardiazol und Coramin beim Kaninchen entspricht nicht dem Krampfdosenverhältnis. Vielmehr ist bei Einhaltung des Krampfdosenverhältnisses die Blutdrucksteigerung unter Coramin wesentlich stärker. Bei der üblichen therapeutischen Dosierung ist daher mit einer stärkeren vasopressorischen Wirkung des Coramins zu rechnen.

3. Die intravenösen Schwellendosen für die blutdrucksteigernde Wirkung wurden für Coramin auf etwa 5 mg/kg und für Cardiazol auf etwa 9 mg/kg ermittelt.

4. Zum Nachweis einer peripheren gefäßerweiternden Coraminwirkung wurden Durchströmungsversuche an der hinteren Körperhälfte von Ratten angestellt. Das Ergebnis war nicht eindeutig, da bald Verengerung, bald Erweiterung sowohl mit Coramin als auch mit Cardiazol resultierten. Die Ergebnisse änderten sich auch nicht bei einer Dauerdurchströmung der Präparate mit Adrenalin zur Erhöhung des Gefäßtonus.

5. Am isolierten Karotisstreifen des Rindes konnte durch relativ niedrige Coraminkonzentration eine Änderung der Adrenalinempfind-

lichkeit festgestellt werden. Vielleicht ist dieser Effekt geeignet, zum Verständnis der blutdrucksenkenden Wirkungskomponente des Coramins beizutragen.

Literatur.

[1] Hahn, F.: Arch. exper. Path. (D.) **198**, 491 (1941). — [2] Hildebrandt, F. u. H. Müggе: Schmerz usw. **1936**, H. 3. — [3] Myers and G. Norman: J. Hyg. (Brit.) **40**, 474 (1940). — [4] Massart, J.: Arch. internat. Pharmacodynam. **37**, 34 (1930). — [5] Stoland, O. O. and A. M. Ginsberg: J. Pharmacol. (Am.) **60**, 396 (1937). — [6] Greene: J. Pharmacol. (Am.) **57**, 98 (1936). — [7] Wégria and Essex: Amer. Heart J. **20**, 557 (1940). — [8] Uhlmann, F. u. F. Nobile: Arch. exper. Path. (D.) **192**, 189 (1939). — [9] Meier, R. u. R. Müller: Schweiz. med. Wschr. **1941**, 278. — [10] Müller, R.: Quart. J. exper. Physiol. **30**, 219 (1940). — [11] Bloch, H.: Helvet. med. Acta, Suppl. **7**, 51 (1941). — [12] Cowan, J. H.: J. med. Sci. **193**, 673 (1937). — [13] Elek, St. R. and L. N. Katz: J. Pharmacol. (Am.) **75**, 178 (1942). — [14] Uhlmann, F.: Z. exper. Med. **43**, 556 (1924). — [15] Eichler, O. u. H. W. Klein: Z. exper. Med. **99**, 28 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Weese).

Untersuchungen über die Angriffspunkte von Cardiazol und Coramin.

III. Über die Wirkung auf den zentralen Parasympathikus.

Von

Fritz Hahn.

(Eingegangen am 4. Dezember 1947.)

Abgesehen von Motorik, Atmung und Kreislauf haben die Krampfgifte auch starke Wirkungen auf das vegetative Nervensystem. Da wir es uns zur Aufgabe gemacht haben, an möglichst vielen Einzelfunktionen des Zentralnervensystems die pharmakologischen Unterschiede von Cardiazol und Coramin kennenzulernen, erschien auch eine Bearbeitung ihrer Wirksamkeit in dieser Richtung von Wichtigkeit. Zu den am längsten bekannten autonom-nervösen Wirkungen der Krampfgifte gehört die *zentrale Reizung der parasympathischen Speichelinnervation*, die sich in starkem Speichelfluß geltend macht. Über Cardiazol und Coramin fehlen aber in der Literatur diesbezügliche Angaben. Um so mehr dürften die folgenden Befunde interessieren, in denen sich ein auffallender Unterschied im Verhalten beider Stoffe zu erkennen gegeben hat. Das Coramin hat sich auf dem in Frage stehenden Gebiet als ein wesentlich stärkeres Parasympathikusgift erwiesen als das Cardiazol. Hierbei ist wieder wie in den vorausgehenden Mitteilungen auf ein hinsichtlich der Krampfwirkung äquivalentes Dosenverhältnis Bezug genommen.

Den Ausgangspunkt zu diesen Untersuchungen bilden Zufallsbeobachtungen, die wir[1] selbst zunächst falsch deuteten, die aber der Anlaß zu weiterer Analyse wurden.

Bei Weckversuchen an Kaninchen in Numalnarkose mit Coramin und Cardiazol ließ sich oft nach subkutanen Gaben von über 450 mg/kg Coramin (*aber noch unterhalb der Krampfschwelle*, welche bei 900 mg/kg in Numalnarkose liegt) das Auftreten von Atemstörungen feststellen. Diese bestanden in Röcheln, Dyspnoe und Zyanose. Meist erholten sich die Tiere wieder. Ähnliche Beobachtungen sind in der Literatur mehrfach registriert, aber stets falsch gedeutet worden (Literatur bei Hahn[1]). Wir haben diese Vorgänge, die oft als Lungenödem aufgefaßt worden sind, aufklären können: *es handelt sich um die Folgen einer Speichelaspiration.* Diese ist wieder die *Folge einer mächtigen Anregung der Speichelsekretion durch das Coramin.* Der Beweis konnte durch

Anlegung einer Trachealkanüle erbracht werden: Darauf blieben die Atemstörungen aus, statt dessen floß den Tieren reichlich Speichel aus dem Maul. Das Cardiazol aber hatte bei diesen Weckversuchen solche Atemstörungen vermissen lassen.

Bei intravenöser Coraminzufuhr läßt sich die beschriebene Erscheinung weniger leicht nachweisen, bei Numalnarkose selbst mit der intravenösen Krampfdosis (300 mg/kg) nicht. Offenbar ist eine protrahierte Wirkung des Coramins besonders günstig hierfür.

Von charakteristischem Einfluß ist ferner die Art der Narkose. Die Chloralosenarkose erwies sich als besonders günstig, um die Grundlagen des beobachteten Phänomens zu studieren. Die Erscheinungen waren hier viel schwerer und fast immer tödlich. Die notwendigen Dosen lagen viel niedriger. Drei Kaninchen, die mit 70 mg/kg Chloralose narkotisiert waren, gingen innerhalb von 1 Stunde ein, als wir sie mit 200, 300 und 400 mg/kg Coramin subkutan behandelten. Das sind Dosen, die nicht nur niedriger liegen als in Numalnarkose (900 mg/kg), sondern sogar noch niedriger als die tödlichen Dosen bei nicht narkotisierten Tieren (300—400 mg/kg). *Es besteht also eine ausgesprochen schlechte Verträglichkeit des Coramins in der Chloralosenarkose.*

Bei der Sektion der Tiere fand sich die Trachea verstopft mit schaumiger oder blasiger Flüssigkeit, die bis in die Bronchien hineinreichte. Die Lungen waren stark gebläht. Histologisch waren keine Zeichen von Ödem in den Alveolen vorhanden. Die Alveolen waren frei und nur vereinzelt mit Blut gefüllt.

Es ist danach nur der makroskopische Befund, der durch den Nachweis der geblähten Lungen und der verstopften Trachea den tödlichen Ausgang erklärt, und zwar als Folge einer Erstickung durch Flüssigkeit, die nicht aus der Lunge stammte. Es handelt sich, wie noch zu zeigen sein wird, auch hier wieder um aspirierten Speichel.

Ein ähnliches Bild ergab sich in der Chloralosenarkose auch bei intravenöser Coraminzufuhr. Nur mußten hierbei die Dosen hoch, d. h. schon in der Gegend der Krampfschwelle liegen. Aber auch hierbei wurde tödlicher Ausgang ohne Krämpfe gelegentlich beobachtet. Am besten unterrichtet hierüber Tabelle 1. (In dieser sind die einzelnen Versuche getrennt eingetragen, und zwar geordnet nach dem Auftreten oder Fehlen von Krämpfen mit oder ohne tödlichen Ausgang.) Man erkennt deutlich die größere Giftigkeit des Coramins in der Chloralosenarkose. Es fällt besonders auf, daß bei subkutaner Zufuhr die tödlichen Dosen noch unter der Krampfschwelle liegen können, was für ein Krampfgift sonst ungewöhnlich ist.

Der Nachweis, daß der Tod an Erstickung erfolgt, ließ sich auch durch die Bestimmung des arteriellen Sauerstoffgehaltes erbringen. Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß nach der intravenösen Zufuhr von tödlichen Coramingaben in Chloralosenarkose der Sauerstoffgehalt im

Tabelle 1. *Wirkung von Coramin in der Narkose.*

Dosis (mg/kg)	Kein Krampf		Krampf	
	nicht tödlich	tödlich	nicht tödlich	tödlich
1. Chloralosenarkose				
a) intravenös				
100	+			
150	++++			
180		+*		
200	++++++	+*	++	+*
300	+			+* +*
b) subkutan				
200		+*		
300		+* +*		
450		+*		
2. Numalnarkose				
a) intravenös				
180	+			
200	+			
300	+		+	
b) subkutan				
450	+			
600	++++++++			
750	+			
900	+	+*		+

arteriellen Blut stark absinkt. Die Bestimmung erfolgte mit dem VAN SLYKEschen Apparat. Bei der Sektion fand sich auch in diesen beiden Versuchen der charakteristische Befund einer Trachealverstopfung mit blasiger, schaumiger Flüssigkeit. Daß es sich hierbei um aspirierten Speichel handelt, wurde auch für die Chloraloseversuche mit Hilfe der Trachealkanüle nachgewiesen.

Solche Versuche haben wir an 3 Tieren ausgeführt. Nach Einführung der Trachealkanüle konnten wir in $^1/_2$—1stündigem Intervall 5 Coramininjektionen steigend von 200 bis auf 400 mg/kg intravenös geben, ohne daß der Tod eintrat. $1^1/_2$ Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet. Wie Tabelle 2 zeigt, tritt der Tod ohne Trachealkanüle schon $^1/_2$ Stunde nach Beibringung der tödlichen Dosis ein. Durch Sektion der kanülierten Tiere ließ sich an den Lungen weder makroskopisch noch mikroskopisch ein pathologischer Befund erheben.

Durch das Phänomen der Speichelaspiration wird also die ungünstige Wirkung des Coramins in der Chloralosenarkose erklärt.

Es war schließlich noch der Nachweis zu führen, daß es sich hier um eine *Parasympathikuswirkung des Coramins* handelt. Dies gelang durch Atropingaben. Wir konnten durch fünfmalige Gaben von 10 mg/kg Atropinsulfat subkutan oder intravenös in einstündigen Abständen erreichen, daß die Kaninchen noch 400 mg/kg Coramin intravenös in Chloralosenarkose vertrugen. In einem andern Versuch ließ

* Speichelaspiration als Todesursache.

Tabelle 2. *O_2-Gehalt im arteriellen Blut vor und nach der Injektion von Coramin und Cardiazol in Chloralosenarkose.*

Analeptikum	Nr.	Dosis mg/kg intravenös	Arterieller O_2-Gehalt (Vol.-%) vor der Injektion des Analeptikums	Arterieller O_2-Gehalt (Vol.-%) nach der Injektion des Analeptikums	Bemerkungen
Cardiazol	1	70	13,2	nach 30 Min.: 11,8	—
	2	180	11,1	nach 30 Min.: 7,9 nach 60 Min.: 8,5 nach 90 Min.: 8,4	Krämpfe — —
	3	250	10,9	nach 25 Min.: 11,7	Krämpfe Tod nach 35 Min.
Coramin	4	2mal 150 (Abstand von 1 Stunde)	12,2	nach 29 Min.: 3,7	Krämpfe Speichelaspiration, Tod nach 30 Min.
	5	200	12,5	nach 25 Min.: 6,11	Speichelaspiration, Tod nach 30 Min.

sich durch Atropin die tödliche Wirkung von 450 mg/kg Coramin subkutan wesentlich herausschieben. Das Tier starb erst in der folgenden Nacht, während der Tod sonst bei dieser Dosis schon nach $^3/_4$ Stunden eintritt.

Schließlich muß hier erwähnt werden, daß ein ähnliches Bild einer tödlichen und durch Trachealkanülierung zu verhindernden Speichelaspiration mitPolicarpin bei Kaninchen hervorgerufen werden kann, worauf ich (HAHN[1]) schon an anderer Stelle hingewiesen habe.

Der Unterschied zwischen der Numalnarkose und der Chloralosenarkose deutet darauf hin, daß *durch die Numalnarkose das parasympathische Zentrum stärker gelähmt wird als durch die Chloralosenarkose.* Daß in der Narkose die Speichelsekretion ruht, davon konnten wir uns leicht überzeugen, als wir in Narkose die Trachea kanülierten und zur Verhinderung des Speichelschluckens auch den Ösophagus unterbanden. Es blieb dann jeder Speichelfluß nach außen hin aus, wie er wegen des Verschlusses der Luft- und Speisewege zu erwarten gewesen wäre. Dagegen tritt eine profuse Salivation auf, wenn man den gleichen Versuch an nicht narkotisierten Tieren (in Lokalanästhesie) ausführt. Die Wirkung des Coramins ist also so zu verstehen, daß es die in der Narkose gelähmte Speichelsekretion wieder in Gang bringt, und zwar bei höheren Dosen überschießend.

Die stärkere Wirkung des Coramins auf die Speichelsekretion in der Chloralosenarkose im Vergleich zur Numalnarkose konnte durch Ermittlung der Schwellendosen exakt festgelegt werden. Wir führten solche Versuche an Kaninchen aus, denen wir die Trachea und den Ösophagus unterbanden und das Coramin in wechselnder Dosierung

intravenös injizierten. Das Ergebnis von 10 Versuchen dieser Art ist in Tabelle 3 niedergelegt. *Der Schwellenwert für Coramin in der Chloralosenarkose liegt mit 150 mg/kg intravenös um die Hälfte niedriger als in der Numalnarkose (300 mg/kg intravenös).*

Tabelle 3. *Schwellendosis für die Anregung der Speichelsekretion.*

		Chloralosenarkose	Numalnarkose
1	Cardiazol	100 mg/kg intravenös —	über 200 mg/kg intravenös 300 mg/kg subkutan
2	Coramin	150 mg/kg intravenös —	300 mg/kg intravenös 450—600 mg/kg subkutan

Die ermittelten Schwellenwerte stimmen in der Größe befriedigend mit den Grenzdosen überein, bei denen wir an narkotisierten Tieren ohne Trachealkanüle das Auftreten von Atemstörungen beobachten konnten.

Die geringere Wirkung des Coramins auf die Speichelsekretion in der Numalnarkose hat zur Folge, daß hier — im Gegensatz zur Chloralosenarkose — die tödlichen Coramindosen der allgemeinen Regel entsprechend höher liegen als beim nicht narkotisierten Tier.

Es war schließlich noch zu prüfen, ob bei *nicht narkotisierten* Tieren die Speichelaspiration eine Rolle für den tödlichen Ausgang nach hohen Coramindosen spielt.

Bei 18 Tieren, die mit 180—300 mg/kg Coramin d. h. der 2—3fachen Krampfdosis intravenös vorbehandelt waren, fanden sich keine geblähten Lungen und keine verstopften Atemwege. In der Trachea war lediglich manchmal etwas blutige, nicht schaumige Flüssigkeit nachweisbar, wohl die Folge einer starken Hyperämie der Schleimhaut, die wir als Merkmal dieser Vergiftung feststellen konnten. Die Lungen waren stark hyperämisch, die Alveolen aber frei oder nur fleckförmig mit Blut usgefüllt. Die Herzen erwiesen sich als schlaff und dilatiert.

Als Todesursache am nicht narkotisierten Tier kommt also keine Speichelaspiration in Betracht. Es scheint sich hierbei vielmehr um ein Herzversagen mit Stauung im kleinen Kreislauf zu handeln. Wir nehmen an, daß dies die Folge der starken Blutdruckwirkung des Coramins ist (vgl. vorausgehende Mitteilung). Vielleicht hängt es auch hiermit zusammen, daß der Abstand zwischen Krampf- und tödlicher Dosis bei Cardiazol größer ist als beim Coramin (vgl. Tabelle 4).

Nur zweimal war histologisch ein ausgedehntes Lungenödem, d. h. eine Ausfüllung der Alveolen mit blutkörperchenfreier, eiweißreicher Flüssigkeit nachweisbar. Eine ähnliche Häufigkeit des Lungenödem fand Jarisch[2] bei Kaninchen mit 2—3fachen Krampfdosen von Cardiazol. Das Coraminlungenödem ist also trotz der starken Blutdruckwirkung des Coramins nicht häufiger als das Cardiazollungenödem. Dies beweist, daß der Übertritt von Blutplasma in die Alveolen noch von anderen Dingen abhängt als der Blutdruckwirkung (vgl. hierzu auch Riechert[3]).

Tabelle 4. *Letale Dosen und Krampfdosen von Cardiazol und Coramin (mg/kg).*

	Ohne Narkose		Chloralosenarkose (70 mg/kg)		Numalnarkose (0,6 cm³/kg)	
	Krampfdosis	Letale Dosis	Krampfdosis	Letale Dosis	Krampfdosis	Letale Dosis
Cardiazol:						
a) intravenös	12	über 100*	250	250	über 250	über 250
b) subkutan.	35	75—100*	über 200	über 200	400	400
Coramin:						
a) intravenös	90	200	200—300	180	300	über 300
b) subkutan.	300	300—400	über 450	200	900	900

Wenn auch die Todesursache bei nicht narkotisierten Tieren nach Coramin keine Speichelaspiration ist, so haben wir doch Hinweise, daß auch am normalen Tier eine Anregung der Speichelsekretion durch Coramin unterhalb der Krampfdosis (= 300 mg/kg subkutan) stattfindet; denn im Laufe von vielen Versuchen während des letzten Jahres sind uns zweimal Kaninchen begegnet, die ohne Narkose auf 250 mg/kg Coramin subkutan mit Röcheln und Zyanose reagierten. Von der gleichen Größenordnung (200 mg/kg subkutan und mehr) sind ja auch die Dosen, die in Chloralosenarkose schon die Speichelaspiration bewirken. Da nicht anzunehmen ist, daß die Chloralose die Speichelsekretion durch Coramin fördert, muß man folgern, daß mindestens gleichniedrige Dosen auch schon am Normaltier die Speichelsekretion anregen. Wenn es dabei nicht zu Atemstörungen kommt, so muß das seinen Grund darin haben, daß der sezernierte Speichel verschluckt und nicht aspiriert wird.

Damit ergibt sich auch ein *geschlossenes Bild über die eigentümliche Erscheinung der hohen Giftigkeit des Coramins in der Chloralosenarkose.* Es fällt bei dieser Narkose die *mangelhafte Lähmung der Zentren der Speichelsekretion zusammen mit einer offenbar voll ausgeprägten narkotischen Lähmung der in Betracht kommenden Schutzreflexe.*

Auch das *Cardiazol* hat grundsätzlich eine fördernde Wirkung auf die Speichelsekretion. Sie tritt in unseren Weckversuchen nicht in Erscheinung, weil sie an sehr viel höhere Dosen gebunden ist als die, welche zur vollen Weckwirkung ausreichen. In welchem Dosenverhältnis zeigen nun beide Stoffe die gleiche Wirkung?

Hierüber berichtet auf Grund von Versuchen an 10 Kaninchen die Tabelle 3, die analog den Coraminversuchen mit abgebundener Trachea und Ösophagus ausgeführt worden sind. Man erkennt, daß die minimalwirksamen Dosen von Cardiazol $^2/_3$ der wirksamen Coramindosen betragen. *Die äquieffektiven Dosen beider Stoffe liegen also außerordentlich*

* Nach Hildebrandt.

nahe beisammen. Das ergibt aber ein Dosenverhältnis, das von den therapeutisch üblichen, in dem das Coramin mehrfach höher dosiert wird als das Cardiazol, wesentlich abweicht.

Hiermit stimmt das Verhalten des arteriellen Sauerstoffgehaltes in Chloralosenarkose überein, wie Tabelle 2 zeigt. Selbst eine akut tödliche Cardiazoldosis, die das Kaninchen in der gleichen Zeit tötete, in der auch Coramintiere an Erstickung eingingen, hatte keinen wesentlichen Effekt auf den O_2-Gehalt des arteriellen Blutes. Die Trachea wurde bei diesem Tier frei gefunden.

Dementsprechend wird auch das Cardiazol in Chloralosenarkose im Gegensatz zum Coramin gut vertragen. 200 mg/kg Cardiazol subkutan lösen nur leichtes vorübergehendes Röcheln aus. Die gleiche Dosis Coramin ist, wie erwähnt, in Chloralosenarkose tödlich. Beachtenswert ist, daß die Menge von 200 mg/kg subkutan für Coramin weniger als die tödliche und krampferzeugende Dosis des Normaltieres beträgt (300 mg/kg), für Cardiazol dagegen weit über der normalen Krampfdosis (35 mg/kg) liegt.

Nur mit hohen, wiederholten Dosen von Cardiazol läßt sich in Chloralosenarkose eine stärkere Beeinträchtigung der Atmung nachweisen.

Dies war z. B. möglich durch 2—3malige intravenöse Gaben von 100 mg/kg in 1stündigem Intervall. Die Tiere röchelten und wurden leicht zyanotisch. Als wir sie daraufhin töteten, fand sich speichelartige Flüssigkeit in der Luftröhre. Als wir in 2 Fällen zur Vermeidung von Speichelschlucken den Ösophagus unterbanden, genügte schon eine einmalige Dosis. Dies spricht dafür, daß das Cardiazol auch durch Wiederherstellung der Schluckreflexe günstig wirkt. Im übrigen ist aber die Weckwirkung des Cardiazols gegenüber Chloralose nur sehr gering.

In Numalnarkose liegen wie beim Coramin auch die speichelflußanregenden Dosen des Cardiazols höher als in Chloralosenarkose. Das Verhältnis der wirksamen Dosen von Coramin und Cardiazol bleibt aber das gleiche. Offenbar ist das Wirkungsverhältnis beider Stoffe am gleichen Zentrum (Speichelzentrum) von der Tiefe der narkotischen Lähmung unabhängig.

Die Wirkung des Cardiazols auf die Speichelsekretion ist in der Numalnarkose so gering, daß nicht nur die zur vollen Erweckung nötigen Dosen (100 mg/kg subkutan), sondern noch dreifach höhere keine Störung der Atmung auslösten. Beim Coramin dagegen macht sich bei den Dosen, die in den Weckversuchen zum Vergleich dienten, die Speichelaspiration bemerkbar. Wahrscheinlich spielt beim Cardiazol neben der geringen Wirkung auf die Speichelsekretion auch die bessere Weckwirkung mit ihren günstigen Folgen auf die Schutzreflexe der oberen Luftwege eine Rolle.

Zusammenfassende Besprechung.

An Hand der Speichelsekretion erkennen wir wieder die schon in den vorausgehenden Mitteilungen festgestellte Tatsache, daß das Krampfdosenverhältnis der beiden Analeptica Cardiazol und Coramin kein Maß für das Wirkungsverhältnis an einem bestimmten Angriffspunkt ist.

Auch in bezug auf die Speichelsekretion liegen die wirksamen Dosen von Cardiazol und Coramin ähnlich nah zusammen, wie in Bezug auf die Wirkungen am Rückenmark und am Vasomotorenzentrum. Rechnen wir die Zentren der Speichelsekretion noch zu den niederen Zentren des Zentralnervensystems, so ordnet sich auch hier wieder das Coramin in das Gesamtbild ein, das wir zur Charakterisierung seiner Wirkung gegeben haben.

Das Coramin hat sich in dieser Arbeit als ein stärkerer Parasympathikusreizstoff zu erkennen gegeben. Es ist von Interesse, daß sich auch die in den kaudalen Abschnitten des Rückenmarks gelegenen parasympathischen Zentren als stärker empfindlich gegenüber Coramin erweisen. Dies trifft für das spinale Zentrum der Erektion und Ejakulation zu. Uhlmann[4] hat darauf hingewiesen, daß Kaninchen unter Coramin einen stärkeren Begattungstrieb zeigen. Wir konnten am dekapitierten Kater durch größere Coramingaben stets Erektionen und Ejakulationen auslösen[1].

Ein praktisches Problem, das durch die vorgelegten Untersuchungen eine Aufklärung erfahren hat, ist das des Coraminlungenödems. Die seit Rosenberg[5] in viele Lehrbücher aufgenommene Behauptung, daß die Anwendung von Coramin eine besondere Gefahr bei drohendem Lungenödem mit sich bringe, kann wohl nicht mehr aufrecht erhalten werden. Wir haben für die klinischen und experimentellen Beobachtungen (Literatur siehe Hahn[1]), die dafür zu sprechen scheinen, eine überraschende Deutung durch die Entdeckung des Phänomens der Speichelaspiration unter Coramin geben können. Im übrigen gibt es ein Coraminlungenödem, aber nur mit weit über der Krampfdosis liegenden Dosen, während die von uns beschriebene Erscheinung an subkonvulsive Dosen gebunden ist. Diese Feststellung muß grundsätzlich getroffen werden, weil aus diesem Grunde unsere Dosen, wenn sie auch absolut betrachtet sehr groß sind, doch noch für die Verhältnisse des Tierexperimentes als „therapeutisch" zu betrachten sind. Man darf eben die je Kilogramm Tiergewicht berechnete Dosis nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen. Das Tier ist zentralnervösen pharmakologischen Einwirkungen gegenüber fast immer

[1] *Anmerkung:* Eine Parasympathikuswirkung ist auch die Verdunkelung der Froschhaut unter Coramin (Burton), während Cardiazol die gegenteilige Wirkung hat (Hahn und Rummel in einer späteren Mitteilung).

resistenter als der Mensch. Schließlich deutet ja auch die Angabe Rosenbergs, daß Salivation eine Nebenwirkung des Coramins am Menschen sei, unmittelbar auf die Möglichkeit einer Übertragung unserer Befunde auf klinische Verhältnisse. Sollte nicht auch die mehrfach festgestellte expektorationsfördernde Wirkung des Coramins als eine Wirkung auf die Drüsen der oberen Luftwege in Parallele zu der Wirkung auf die Speicheldrüsen zu setzen sein?

Aber auch noch ein weiterer Grund bestärkt uns in der Überzeugung von der allgemeineren Bedeutung der mitgeteilten Befunde. Nach unserer ersten kurzen Mitteilung wurde uns von nervenärztlicher Seite mitgeteilt, daß ein „lungenödemartiges" Bild mit Röcheln, Salivation und mit langanhaltender Cyanose, das auf Atropin gut anspreche, nicht selten bei der Cardiazolschocktherapie zu beobachten sei. Nun haben wir ja für das Cardiazol grundsätzlich die gleiche Wirkung wie für Coramin, nur in geringerem Grade, nachgewiesen. Das Cardiazol wird aber — schon im Hinblick auf die Schocktherapie — viel „heroischer" dosiert als das Coramin. Drum sind wir auch über die Pharmakologie hoher Coramindosen beim Menschen viel weniger unterrichtet, sonst würden vielleicht mehr Beobachtungen bekannt sein, die sich unseren tierexperimentellen Befunden fügten.

Zusammenfassung.

1. Beobachtungen über Speichelaspiration bei Kaninchen durch nicht krampfmachende Coramindosen in Numalnarkose veranlaßten eine nähere Analyse dieses Phänomens.

2. Als besonders geeignet erwies sich hierfür die Chloralosenarkose. In dieser Narkose besitzt das Kaninchen eine ausgesprochen schlechte Verträglichkeit für Coramin, so daß schon solche subkutanen Dosen tödlich sind, die beim nicht narkotisierten Tier noch nicht einmal Krämpfe auslösen. Die Ursache liegt in einer in Chloralosenarkose besonders starken Erregung der Speichelsekretion durch Coramin. Infolge der gleichzeitigen Lähmung der Schluckreflexe durch die Narkose kommt es zur Erstickung durch Speichelaspiration, die das Bild eines Lungenödems vortäuschen kann.

3. Die starke Speichelwirkung des Coramins beruht auf einer zentralen Reizung des Parasympathikus. Sie ist durch hohe Atropingaben aufzuheben. Pilokarpinvergiftung erzeugt ein ähnliches Bild der Speichelaspiration mit Erstickung.

4. Während sich diese Beobachtungen in der Narkose durch nicht krampfmachende Dosen nachweisen lassen, gehen normale Tiere auch nicht mit hohen Krampfdosen an Speichelaspiration zugrunde. Auch Lungenödem kommt nur ausnahmsweise als Todesursache in Frage.

Das Coraminlungenödem ist nicht häufiger als das Cardiazollungenödem.

5. Die Wirkung des Cardiazols auf die Speichelsekretion ist so viel schwächer, daß zur Erzielung gleicher Wirkung mindestens zwei Drittel der wirksamen Coramindosen erforderlich sind. Das aber entspricht nicht dem Krampfdosenverhältnis und auch nicht dem therapeutisch üblichen Dosenverhältnis. Das Cardiazol ist also als ein schwächerer Parasympathikusreizstoff zu bezeichnen.

6. Auch die lumbalen Parasympathikuszentren sprechen auf Coramin stärker an als auf Cardiazol.

Literatur.

[1] Hahn, F.: Klin. Wschr. **1947**, 276. — [2] Jarisch, A., H. Richter u. H. Thoma: Klin. Wschr. **1939**, 1440. — [3] Riechert, W.: Arch. exper. Path. (D.) **197**, 620 (1941). — [4] Uhlmann, Fr.: Z. exper. Med. **43**, 556 (1924). — [5] Rosenberg, M.: Münch. med. Wschr. **1925 II**, 1841.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Weese).

Untersuchungen über die Angriffspunkte von Cardiazol und Coramin.

IV. Über die Wirkung auf den zentralen Sympathikus.

Von

Fritz Hahn.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Dezember 1947.)

Im Anschluß an die vorausgehende Mitteilung, wo wir die starke Wirkung des Coramins auf den Parasympathikus kennengelernt hatten, interessierte uns, wie die Wirkung auf ein sympathisch gesteuertes Funktionsgebiet ist. Bisher ist nur vom Cardiazol bekannt, daß es den Blutzucker erhöht (Bömer[1]). Die von diesem Autor verwandten Dosen sind allerdings sehr hoch und schon als Krampfdosen zu bezeichnen (35—40 mg/kg subkutan). Im Krampfanfall scheint die Wirkung des Cardiazols auf den Blutzucker nicht nur durch einen direkten Sympathikusreiz auf die Leber, sondern auch wesentlich über eine Adrenalinausschüttung zustande zu kommen (Robuschi[2]). Unsere Versuche wurden mit nicht krampferzeugenden Dosen an Kaninchen ausgeführt.

Weitere Versuche erstreckten sich auf den nach Straub und Viaud[3] isolierten Meerschweinchendarm. Dieses Präparat gestattet es, die Darmfunktion in Zusammenhang mit ihrer zentralnervösen Versorgung zu studieren. Damit mußte sich auch der Einfluß zentraler Analeptika auf den Darm erfassen lassen, worüber noch wenig bekannt ist. Es stand zur Entscheidung, ob die Wirkung sympathisch-lähmender oder parasympathisch-erregender Natur sei.

Die Frage nach den Beziehungen von Cardiazol und Coramin zu Sympathikus und Parasympathikus steht auch in enger Beziehung zu der Wirkung der beiden Stoffe auf die Körpertemperatur, die nach unseren Feststellungen (Hahn[4]) eine gegensätzliche ist. Da das Coramin ein temperatursteigender Stoff ist, müßte ihm nach der Lehre von H. H. Meyer[5] eine stärkere Sympathikuswirkung zukommen. Vom Cardiazol als einem temperatursenkenden Stoff müßte ein mehr parasympathischer Charakter erwartet werden. Unsere Erfahrungen über die Speichelwirkung beider Stoffe sprechen allerdings schon nicht in diesem Sinne. Wir werden am Schluß dieser Arbeit zu erörtern haben, ob die erwähnte Anschauung sich durch die Sympathikuswirkung beider Stoffe stützen läßt.

1. Blutzuckerversuche.

Die Blutzuckerbestimmungen wurden an Kaninchen nach HAGEDORN-JENSEN ausgeführt. Der Injektion des Analeptikums ging eine zweimalige Vorprobe des Blutzuckerwertes im Abstand von einer Stunde voraus. Nach der Injektion wurde in $^1/_2$ bis 1stündigen Zwischenräumen die Bestimmung vorgenommen.

Als geeignete Dosis zur Erzielung gut meßbarer Ausschläge erwies sich die halbe subkutane Krampfdosis. Um eine zuverlässige Vergleichsmöglichkeit von Cardiazol und Coramin zu haben, wurden an jedem Versuchstier beide Stoffe in wechselnder Reihenfolge zur Prüfung gebraucht. Im Leerversuch wurde schließlich noch die Wirkung von einfachen Kochsalzinjektionen geprüft. Die Versuche folgten in Abständen von 2—3 Wochen. Insgesamt kamen 8 Kaninchen zur Verwendung.

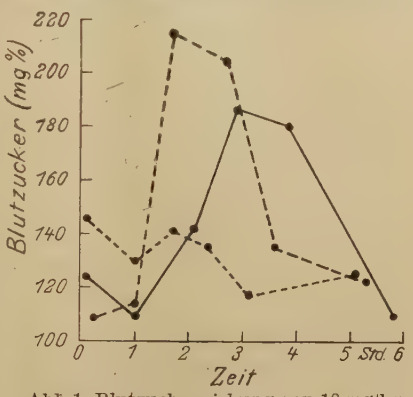


Abb.1. Blutzuckerwirkung von 18 mg/kg Cardiazol (langgestrichelte Linie) bzw. 150 mg/kg Coramin (ausgezogene Linie) subkutan. Kontrolle: Kochsalzlösung (kurzgestrichelte Linie). Injektion sofort nach der zweiten Blutprobe (1 Stunde nach Versuchsbeginn).

Über den Verlauf der Blutzuckerwerte unterrichtet an Hand eines Versuchsbeispiels die Abb. 1. Man erkennt nach der Anwendung halber Krampfdosen von Cardiazol und Coramin einen Anstieg der Blutzuckerwerte, die für beide Stoffe etwa gleich sind. Unter Coramin steigt der Blutzucker lediglich etwas verspätet an, fällt dafür aber auch später wieder ab. Dieses Beispiel ist typisch für das Verhalten sämtlicher Versuche. Einen Überblick hierüber gibt die Tabelle 1. Wenn auch manchmal das Cardiazol und manchmal das Coramin stärker wirksam war, so heben sich doch diese Abweichungen derart auf, daß im Durchschnitt gesehen *dem Cardiazol und dem Coramin bei Anwendung*

Tabelle 1. *Wirkung von Cardiazol und Coramin auf den Blutzucker des normalen Kaninchens.*

Tier Nr.	*Coramin* (150 mg/kg subkutan)				*Cardiazol* (18 mg/kg subkutan)			
	Ausgangsblutzucker mg-%	Steigerung um mg-%	Temperaturwirkung Grad	Wirkungsdauer (Std.)	Ausgangsblutzucker mg-%	Steigerung um mg-%	Temperaturwirkung Grad	Wirkungsdauer (Std.)
1	109	**77**	+ 0,15	4—5	114	**114**	— 0,5	4—5
2	99	**45**	+ 0,5	4—5	90	**59**	— 0,55	4—5
3	114	**35**	+ 1,35	4	108	**29**	— 0,65	2—3
4	99	**153**	+ 1,0	?	106	**136**	— 1,7	4—5
5	123	**35**	+ 0,1	5	107	**38**	— 0,45	3
6	154	**77**	+ 0,35	5	146	**81**	— 0,7	2
7	114	**39**	+ 0,65	5	122	**80**	— 0,35	4
8	130	**72**	+ 0,5	5	115	**41**	— 0,3	4

von Dosen, die von der Krampfschwelle den gleichen prozentigen Abstand haben, die gleiche Blutzuckerwirkung zugesprochen werden muß. Damit weicht das in bezug auf den Sympathikuseffekt erhaltene Ergebnis nicht unwesentlich von dem Ergebnis unserer Speichel- und Blutdruckversuche ab.

In allen Versuchen wurde auch die Körpertemperatur gemessen. Das schon früher beschriebene gegensätzliche Verhalten von Cardiazol und Coramin tritt wieder deutlich in Erscheinung. Um so mehr bemerkenswerter ist die Gleichartigkeit der Wirkung in bezug auf den Sympathikus. Die Unabhängigkeit beider Vorgänge ist somit erwiesen.

Unsere Versuche haben auch für beide Analeptika die Unabhängigkeit des Blutzuckeranstiegs von gleichzeitig auftretenden Krämpfen erwiesen, denn die wirksamen Dosen betragen nur 50% der Krampfdosen beider Stoffe. Trotzdem bleibt die Möglichkeit, daß zwischen der Wirkung auf die Motorik und den Blutzucker ein Zusammenhang besteht. Man könnte annehmen, daß die Reizung der motorischen Zentren derart mit einem Sympathikusreiz gekoppelt ist, daß der Blutzuckeranstieg den Krämpfen gewissermaßen vorauseilt. Für eine solche Annahme könnte die Übereinstimmung im Verhältnis von blutzuckersteigernden und krampferzeugenden Dosen sprechen. Ein Weg, diese Frage zu prüfen, schien gegeben durch die Prüfung der Wirkung beider Stoffe auf den Blutzucker in der Narkose. Es fragte sich, ob durch die Narkose eine Verschiebung im Verhältnis der blutzuckerwirksamen Dosen in ähnlicher Weise stattfindet, wie es für die Krampfdosen gilt.

Wir haben daher die Unterdrückbarkeit der Blutzuckerwirkung beider Analeptika durch Numal untersucht. In Vorversuchen ermittelten wir zunächst, wie stark die Wirkung der Narkose auf die Blutzuckerwirkung des Cardiazols ist. Wir stellten fest, daß der Schwellenwert für die Wirkung einer subkutanen Cardiazoldosis durch 0,6 cm^3/kg Numal intravenös auf das etwa 10fache gehoben wird. Das ist der gleiche Betrag, um den auch die subkutane Krampfschwelle gesteigert wird.

Bei den Vergleichsversuchen mit Coramin und Cardiazol wurde das Numal intraperitoneal (0,6 cm^3/kg) verabreicht. Die Narkose war dabei weniger tief und der Einfluß auf die Blutzuckerwirkung der beiden Analeptika geringer.

In diesen Versuchen wurde zunächst vor Beginn der Narkose eine Blutprobe entnommen. Zwei weitere Entnahmen in Abständen von $^3/_4$ Stunden folgten nach Injektion des Narkotikums. Alsdann folgte die subkutane Injektion des Analeptikums. Weitere Blutentnahmen in $^1/_2$-, $^3/_4$-, 1-, $1^1/_2$- usw. stündigen Intervallen.

In Kontrollversuchen wurde der Verlauf des Blutzuckers in der Narkose ohne Injektion des Analeptikums verfolgt. Dabei ergab sich meist ein mehr oder weniger deutlicher Anstieg unmittelbar nach Injektion des Narkotikums, der aber gewöhnlich wieder zur Zeit der Injektion des Analepticums abgeklungen war.

Das Ergebnis dieser Versuche war nicht ganz eindeutig. Wie nämlich die Tabelle 2 erkennen läßt, ist in einem Teil der Versuche ein auffallend starker Blutzuckeranstieg unter Coramin vorhanden, der durch Cardiazol nicht erreicht wurde*. Das Dosenverhältnis, in dem das Cardiazol und das Coramin einander vergleichsweise gegenübergestellt sind, entspricht hierbei dem am normalen Tier gleich wirksamen. Nur die absolute Größe der Dosen liegt höher (4—6fach). In einem weiteren Teil der Versuche sind die Blutzuckeranstiege unter Coramin nicht besonders hoch und entsprechen denjenigen unter Cardiazol.

Tabelle 2.

Kaninchen Nr.	*Coramin*-dosis mg/kg	Ausgangs-blutzucker mg-%	Steigerung um mg-%	*Cardiazol*-dosis mg/kg	Ausgangs-blutzucker mg-%	Steigerung um mg-%
1	450	119	17	—	—	—
	600	158	190	70	119	7
	—	—	—	105	126	40
2	450	127	12	—	—	—
	900	132	193	105	117	63
	Krämpfe!					
3	900	135	188	105	160	33
4	750	130	144	—	—	—
5	600	157	141	—	—	—
6	600	116	163	72	106	61
7	600	93	56	72	112	66
8	600	93	8	72	116	7

Wir dachten daran, daß es infolge der hohen Dosen und der relativ oberflächlichen Narkose unter Coramin in manchen Fällen zu einer Mitreizung von Zentren käme, die auf kleinere Dosen nicht ansprechen (Rückenmark ?). Möglich ist auch, daß manchmal durch die größere Krampfnähe unter Coramin eine Einwirkung auf die Nebennieren mit Adrenalinausschüttung beteiligt war.

Wir haben daher in einer zweiten Versuchsreihe die Narkose etwas vertieft, indem wir das Numal intravenös verabreichten (allerdings nur 0,5 cm^3/kg). Das Ergebnis dieser Serie spricht nicht mehr für eine Überlegenheit des Coramins, wie Tabelle 3 zeigt. Die gefundenen Ausschläge bewegen sich für beide Analeptika in der gleichen Größenordnung wie diejenigen am normalen Tier mit den 4fach kleineren Dosen. Wir dürfen daraus folgern, daß *durch die Numalnarkose im allgemeinen die Schwellenwerte für Cardiazol und Coramin gleich stark*

* *Anmerkung:* Dieses Ergebnis lag meinem Vortrag auf dem Pharmakologenkongreß in Hamburg 1947 zugrunde. Durch die folgenden Befunde ist eine Erweiterung und Klärung erzielt worden, die die damaligen Schlußfolgerungen korrigiert.

erhöht werden. Eine Verschiebung im Verhältnis der blutzuckerwirksamen Dosen findet also im Gegensatz zu den Krampfdosen nicht sicher statt. Dies bedeutet wohl, daß die Blutzuckerwirkung beider Analeptika im Gegensatz zur Krampfwirkung hauptsächlich von gemeinsamen Angriffspunkten ausgeht.

Tabelle 3. *Wirkung von Cardiazol und Coramin auf den Blutzucker nach intravenöser Numalinjektion (0,5 cm³/kg).*

Kaninchen Nr.	*Coramin*-dosis mg/kg	Ausgangs-blutzucker mg-%	Steigerung um mg-%	*Cardiazol*-dosis mg/kg	Ausgangs-blutzucker mg-%	Steigerung um mg-%
1	600	82	42	72	85	35
2	600	108	58	72	74	37
3	600	76	28	72	88	90
4	600	100	58	72	90	35
5	600	90	31	72	88	19
6	600	91	47	72	88	17
7	600	98	82	72	120	52

2. Versuche am Meerschweinchendarm.

Die Versuche wurden nach den Vorschriften von STRAUB und VIAUD[3] an 20 mit Urethan narkotisierten Meerschweinchen durchgeführt Es kam stets ein etwa 5 cm langes Stück des oberen Jejunums zur Verwendung. Die Methode erlaubt, die peristaltische Tätigkeit des Darmes auf zweierlei Weise zu messen. Man kann zunächst einmal — immer vom Nullpunkt ausgehend — durch stufenweise Füllung des Darmes den Minimaldruck aufsuchen, der zur Auslösung einer Serie peristaltischer Wellen erforderlich ist. Die Abb. 2 gibt einen solchen Versuch vor und nach Injektion von 50 mg/kg Coramin intravenös (Jugularvene) wieder. Man ersieht hieraus, daß das Coramin den zur Auslösung peristaltischer Tätigkeit erforderlichen Füllungsdruck erhöht. Es muß bei der Ausführung solcher Versuche darauf geachtet werden, daß nicht durch die Weckwirkung des Analeptikums eine Unruhe des Tieres hervorgerufen wird, die zu einer Kompression des isolierten Darmstückes führt und damit durch Entlastung der Darmspannung eine Heraufsetzung des kritischen Füllungsdruckes vortäuscht. Auch bei Beachtung dieser Vorschrift konnten wir sowohl mit Coramin als auch mit Cardiazol eine herabgesetzte Auslösbarkeit peristaltischer Tätigkeit feststellen. *Die Wirkung beider Analeptika auf den Darm am narkotisierten Tier besteht also in einer Hemmung der Peristaltik, die aller Wahrscheinlichkeit nach zentral sympathischer Genese ist.*

Ein zweites methodisches Vorgehen besteht darin, daß man den kritischen Füllungsdruck des Darmes aufsucht und konstant hält. Es treten dann periodisch Serien peristaltischer Wellen auf. Mit dieser Methode läßt sich die Wirkung hemmender Darmgifte sowohl als

Wirkung auf die Peristaltik als auch auf den Tonus erfassen. Das *Sinken des Darmtonus* führt zu einem Rücklauf von Flüssigkeit aus

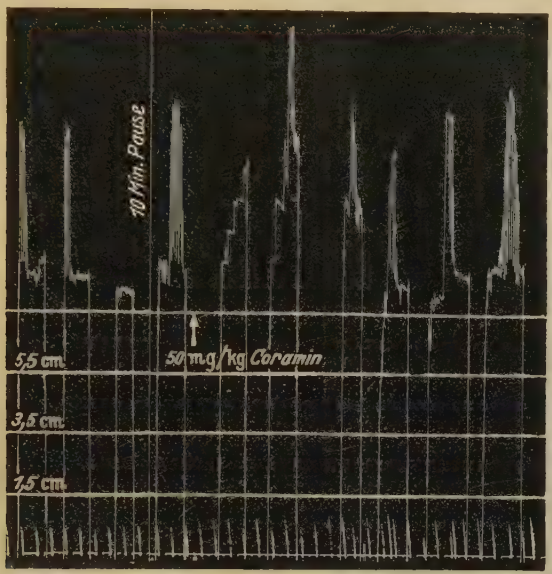


Abb. 2. Meerschweinchenjejunum. Wirkung von Coramin intravenös. Ordinate = Zentimeter Wasserdruck.

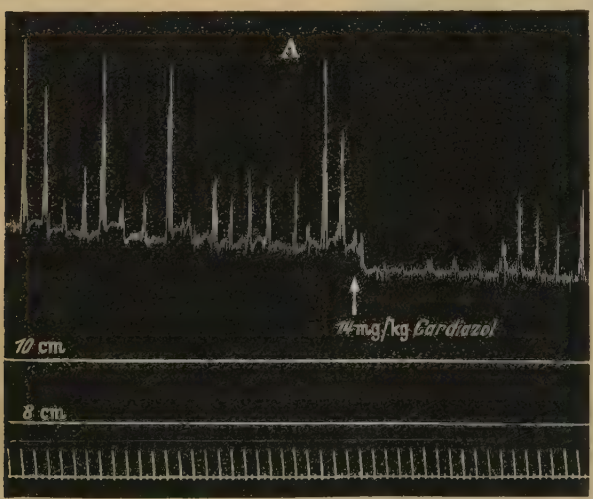


Abb. 3. Meerschweinchenjejunum. Wirkung von Cardiazol intravenös. Ordinate = Zentimeter Wasserdruck.

dem Manometer in den Darm und damit zu einer Senkung des Manometerspiegels. Gleichzeitig erlischt die Peristaltik. *Auch dieser Effekt*

ließ sich durch Cardiazol und Coramin erzielen. Es gelang dies aber nur in einigen Versuchen, in denen offenbar der gegensinnig gerichtete Parasympathikustonus gering war; denn diese Präparate fielen dadurch auf, daß der zur Peristaltik nötige Druckreiz sehr hoch war und die peristaltische Tätigkeit in den einzelnen Perioden rasch ermüdete. Der erwartete Effekt war aber dann sehr gut darstellbar, wie Abb. 3 am Beispiel des Cardiazols zeigt.

Aus der Gesamtheit unserer Beobachtungen läßt sich ein unterer Grenzwert der Wirkung ermitteln, der für Cardiazol bei 15 mg/kg und für Coramin bei 50 mg/kg liegt. *Dieses Verhältnis entspricht dem normalen Krampfdosenverhältnis beider Stoffe beim Meerschweinchen.*

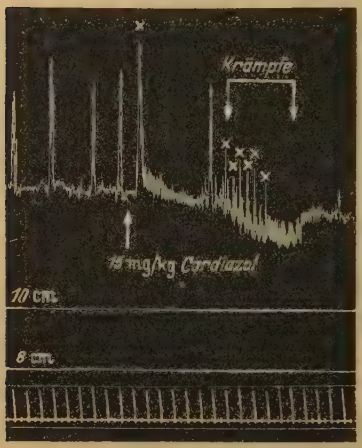


Abb. 4. Meerschweinchenjejunum. Wirkung von Cardiazol in Krampfdosis. × = Ausschläge, verursacht durch Kompression des Darmes infolge der krampfhaften Bewegungen des Tieres. Ordinate = Zentimeter Wasserdruck.

Von Interesse ist auch eine Beobachtung, die wir einige Male beim Auftreten von Krämpfen machen konnten. Die Abb. 4, die wir als Beispiel bringen, stellt den Effekt eines plötzlich eintretenden Krampfanfalles auf den Darmtonus dar. Man sieht, wie *der durch Cardiazol bereits gesenkte Darmtonus durch den Krampfanfall schlagartig eine zusätzliche Senkung erfährt,* die ebenso plötzlich nach Aufhören des Krampfanfalles wieder zurückgeht. Es handelte sich hier um klonische Krämpfe der Extremitäten. Durch einzelne Zuckungen des Rumpfes kam es zu Ausschlägen des Manometers, die mithin artefizieller Natur und in Abb. 4 durch × gekennzeichnet sind. Ob mit dem Ausbruch von Krämpfen ein Extrareiz des Sympathikus vom Zentralnervensystem in die Peripherie schießt oder ob es sich um eine plötzliche Adrenalinausschüttung handelt, bleibt offen.

Zusammenfassende Besprechung.

Die Blutzuckerversuche und die Versuche am Meerschweinchendarm haben übereinstimmend ergeben, daß die stärkere Wirkung, die das Coramin auf den Parasympathikus hat, auf dem Gebiet des Sympathikus nicht besteht. Hier sind beide Stoffe, auf der Basis des normalen Krampfdosenverhältnisses miteinander verglichen, von gleicher Wirksamkeit.

Daß die von uns festgestellte Wirkung beider Stoffe auf den Darm zentraler Natur ist, kann daraus gefolgert werden, daß der isolierte Darm nach den Versuchen von UHLMANN[6] und HILDEBRANDT[7] nicht mit Hemmung auf Coramin

und Cardiazol reagiert. Im gleichen Sinne spricht auch der gelegentlich beobachtete Zusammenhang von intensiver Darmhemmung und auftretenden Krämpfen.

In der ersten Mitteilung hatten wir festgestellt, daß das Verhältnis der Krampfdosen von Cardiazol und Coramin durch die Narkose eine Verschiebung erleidet. Die folgenden Mitteilungen haben ergeben, daß bei keiner der untersuchten vegetativen Wirkungen (Blutdruck, Speichelfluß, Blutzucker) das gleiche zutrifft. Wir schließen daraus, daß in diesen letzteren Fällen beide Stoffe am gleichen Substrat angreifen.

Das Wirkungsbild beider Analeptika stellt sich durch unsere Untersuchungen als ein Nebeneinander von sympathischer und parasympathischer Erregung dar. Ein Unterschied ist jedoch die stärkere Betonung des Parasympathikus in der Coraminwirkung. Aber ebensowenig wie diese Tatsache geeignet war, die gegensätzliche Wirkung von Cardiazol und Coramin auf die Körpertemperatur zu erklären, fügt sich in diese Tatsache die gleiche Wirkung beider Stoffe auf den Sympathikus. Der Unterschied in der Temperaturwirkung beider Stoffe muß auf einer anderen Ebene liegen. Wir sehen die Ursache für die verschiedenartige Temperaturwirkung darin, daß das Cardiazol durch seine größere Affinität zu den höheren Abschnitten des Zentralnervensystems unmittelbar in die übergeordnete zentrale Wärmeregulation eingreift, während das Coramin nur untergeordnete Effektoren der Wärmebildung beeinflußt (Hahn[4]).

Zusammenfassung.

1. Im Gegensatz zur Wirkung auf den Blutdruck und den Parasympathikus ist die Wirkung von Cardiazol und Coramin auf den Sympathicus (Blutzuckersteigerung, Hemmung der Darmperistaltik) bei Einhaltung des Krampfdosenverhältnisses gleich.

2. In der Narkose tritt keine sichere Verschiebung im Verhältnis der Schwellenwerte der blutzuckerwirksamen Dosen von Cardiazol und Coramin ein im Gegensatz zu dem Verhalten der Krampfdosen. Es werden lediglich die absoluten Dosen um das Mehrfache erhöht.

3. Die Wirkungen von Cardiazol und Coramin auf den Sympathikus und Parasympathikus sind nicht geeignet, die gegensinnige Wirkung beider Stoffe auf die Körpertemperatur zu erklären.

Literatur.

[1] Bömer, M.: Arch. exper. Path. (D.) **149**, 247 (1930). — [2] Robuschi, Luigi: Ormoni **4**, 81 (1942). — [3] Straub, W. u. P. Viaud: Arch exper. Path. (D.) **169**, 1 (1932). — [4] Hahn, F.: Arch. exper. Path. (D.) **202**, 165 (1943). — [5] Meyer, H.H.: Zit. nach Meyer-Gottlieb-Pick, Die experimentelle Pharmakologie, S. 616. Berlin-Wien 1936. — [6] Uhlmann, Fr.: Z. exper. Med. **43**, 556 (1924). — [7] Hildebrandt, F.: Arch. exper. Path. (D.) **116**, 100 (1926).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen (Direktor Prof. Dr. med. Ernst Frey) und der Medizinischen Klinik der Universität Freiburg i. Br. (Direktor Prof. Dr. med. Ludwig Heilmeyer).

Der Einfluß von Azetylcholin und Adrenalin auf die Ruhedehnungskurve und Refraktärzeit des isolierten Froschventrikels.

Von

Ernst Frey und Joachim Frey.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Dezember 1947.)

Einleitung.

Durch die von Otto Frank[1] vorgenommene Übertragung der mechanischen Verhältnisse des Skelettmuskels bei Ruhe und Kontraktion auf den Herzmuskel waren die Grundlagen gegeben, die Arbeitsweise des Herzens in ihrer Abhängigkeit von Spannung und Länge der Herzmuskelfaser unter verschiedenen Arbeitsbedingungen, also die Dynamik des Herzens, zu untersuchen. Durch weitere Experimente von Hermann Straub[2] und E. H. Starling[3] konnten dann die Beziehungen des Auswurfvolumens zum venösen Blutangebot und seine Unabhängigkeit vom Aortendruck gefunden werden, allgemein jetzt bekannt als Frank-Straub-Starlingsche Herzgesetze. Diese Gesetze erhalten ihre Modifikation durch extrakardiale Einflüsse, von denen an erster Stelle die vegetativen Nerven zu nennen sind.

Danach ist die diastolische Faserspannung der Ventrikel zu Ende der Diastole, die der beidseitige Venen-Vorhofsdruck als diastolisches Ventrikelvolumen bewirkt, ausschlaggebend für die Leistung des isolierten Herzens (und offenbar auch des Herzens im Gesamtgefüge des Organismus). Während die Fülldrucke der beiden Ventrikelhohlmuskeln im Tierexperiment mittels der Bestimmung der Vorhofsdrucke einer direkten Messung zugänglich sind, können sie beim Menschen nur einer Schätzung unterzogen werden, und zwar durch Ermittelung des Venendruckes, der wiederum auch nur in *einem* Kreislaufanteil, nämlich vor dem rechten Herzen bestimmbar ist. Dagegen sind die Möglichkeiten der Untersuchung der elastischen Verhältnisse der Ventrikel in Abhängigkeit von der Fülldruckdehnung (sog. Dehnungskurve) nur unter besonderen Bedingungen des Tierversuchs ausführbar, am Menschen möglicherweise nicbt einmal richtungweisend übersehbar.

Es ist immer wieder aus Experimenten, auch aus klinischen Befunden[4–8], gefolgert worden, daß unter bestimmten, jetzt nicht näher auseinanderzusetzenden Bedingungen eine Änderung der Ruhedehnungskurve der Ventrikel, gemeinhin auch mit dem selbst heutzutage

noch nicht klar definierten Begriff des Tonus (z. B. Winterstein[4], Wachholder[5], Riesser[6]) des Herzens angesprochen, eintreten könne (z. B. W. R. Hess[7], Eismayer und Quincke[8], Dietlen[9], Pendl[10]). Für die Physiologie und Pathologie der Herzarbeit liegt die Bedeutung dieses wichtigen Problems vor allem aber in der Frage begründet, ob Änderungen der Tonuslage des vegetativen Nervensystems zu akuten Änderungen der elastischen Verhältnisse des Herzmuskels führen können, also extrakardiale vegetativ-nervöse Reize auf die Ruhedehnungskurve der Ventrikel einwirken. Entgegen den genannten Autoren wurde von O. Frank (zit. nach H. Straub[11]) für das Froschherz keine Beeinflussung der Ruhedehnungskurve durch Vagusreiz, von Bauereisen (zit. nach Reichel[12]) das gleiche bei Akzeleransreiz beobachtet.

F. B. Hofmann[13] spricht sich bereits 1909 gegen eine Wirkung der vegetativen Nerven auf den „Tonus" aus und hält sie in den meisten Fällen für „eine sekundäre Folge der Frequenzabnahme und der Abschwächung der Kontraktionen"; auch wurde eine stärkere Erschlaffung ohne Frequenzänderung bei starker Abschwächung der Kontraktionsgröße gefunden (Gaskell[14], Heidenhain[15]). Da die abgeschwächten Systolen rascher als die normalen verlaufen, falls es sich nicht um Ermüdungserscheinungen handelt, ist es „infolgedessen auch unrichtig, wenn man die Abschwächung der Systolen als Folge dieser „Tonusabnahme" des Herzens hinstellt, erstere ist vielmehr die Ursache der letzteren" (F. B. Hofmann[13]). Der ruhende Froschventrikel zeigt bei Vagusreizung ebensowenig eine Erschlaffung (F. B. Hofmann[13]) wie der stillstehende Schildkrötenvorhof (Gaskell[16]). Hinzu kommt noch die Beeinflussung der anabolen (assimilatorischen) und katabolen (dissimilatorischen) Prozesse im Herzmuskel durch die vegetativen Nerven (Gaskell[17], E. Frey[18], Gremels[19]), auf die zur Erklärung der Änderungen des effektiven diastolischen Herzvolums zum Schluß näher eingegangen werden muß.

Fragestellung.

Da man heute allgemein der Ansicht der humoralen Übertragung des Nervenreizes auf den Muskel (Loewi[20], Dale[21]) ist (s. z. B. Kornmüller[22]), so erhebt sich die Frage, ob die als Überträgerstoffe angesehenen Azetylcholin (s. dazu Spadolini und Domini[23]) und Adrenalin in der Lage sind, sog. „Tonusänderungen" der Herzmuskulatur zu bedingen, die einmal als echte Änderungen der Dehnungskurve des ruhenden Herzens, dann der elastischen Verhältnisse des tätigen und der Reizbarkeit und damit als Auswirkungen der (extrakardialen) Beeinflussung des Nervensystems anzusehen sind.

Versuche.

Es wurde deshalb die Wirkung von Azetylcholin und Adrenalin am isolierten stillstehenden Ventrikel des Froschherzens, zusammen mit dem elastischen Verhalten des tätigen (Zuckungsmaxima) untersucht.

1. Volumspannungskurven des ruhenden und tätigen Froschventrikels.

Methode. Zur Feststellung des Volumens des Herzens von Rana temporaria bei geänderten Füllungsdrucken (Spannung) in Ruhe (Ruhedehnungskurve) und bei Kontraktionen (Kurve der Kontraktionsmaxima) wurde der Ventrikel eines Frosches auf eine doppelläufige Durchströmungskanüle aufgebunden, wodurch er mittels der — als Stanniusligatur wirkenden — Befestigungsligatur vom Vorhof abgetrennt stillstand. Die Kammer befand sich in einem Glasonkometer, an dem in Herzhöhe eine Mikrobürette (eingeteilt in 1/100 ccm) in horizontaler Lage angebracht war, womit die Änderungen des Kammervolumens bei verschiedenen Drucken in Ruhe und Tätigkeit abgelesen werden konnten. Die Tätigkeitskurve stellt demnach isotonische Maxima dar. Die verschiedenen Fülldrucke wurden als Differenz der Höhe der Ausflußöffnung (in Herzhöhe) und der der Durchflußvorratsflasche durch Heben von mit Kaltblüterringer und Ringer plus Azetylcholin bzw. Adrenalin gefüllten Mariotteschen Flaschen hergestellt (Druck 0, 5, 10 cm usw.). Nach Feststellung des Kammervolumens bei den einzelnen Fülldrucken bei abgestelltem Ausfluß wurde der Ventrikel jeweils durch einen übermaximalen Öffnungsschlag zur Kontraktion gebracht und die Verringerung des Kammervolumens als Folge der isotonischen Kontraktion an der Onkometerbürette abgelesen.

Nach Aufnahme der Spannungsvolumina bei Ringerdurchströmung der Ventrikel in ruhendem und tätigem Zustand wurde bei jedem Herzen eine Durchströmung mit Adrenalin- oder Azetylcholinringer mit einer Geschwindigkeit von 1 Tropfen/Sek. vorgenommen und danach die Spannungsvolumina erneut in der vorausgegangenen Weise bestimmt. Eine Rechtswanderung der Kurven, wie sie von Matthiessen und Rothkopf[24] bei übergroßer Dehnung gefunden wurde, trat nicht auf, weil nur bis zu 40-cm-Fülldrucken gegangen wurde, bei denen die Maximakurven gewöhnlich noch nicht ihren ersten Gipfelpunkt erreichen. Zwischen den Feststellungen der Minima- und Maximawerte wurde das Herz jeweils erneut mit der Versuchslösung durchströmt, jedoch nun mit den zu prüfenden Fülldrucken, weil bei Azetylcholin eine Zerstörung durch die Esterase nach einmaliger Einfüllung der Giftlösung sehr schnell eintrat, wie andere Versuche von uns lehrten.

Die Herzen verhielten sich verschieden (Winter 1946/47), so daß nur die Ergebnisse an denselben Herzen vor und nach der Vergiftung zu vergleichen sind. Die Konzentrationen wurden so gewählt, daß im Verlaufe der Versuche die Zuckungsmaxima nach Adrenalin (Bayer) größer, nach Azetylcholin kleiner wurden: Adrenalin in einer Konzentration von 25—50 γ-%, Azetylcholin (Merck) in einer solchen von 0,0125 γ-%.

Ergebnisse.

1. Azetylcholin. Von den 6 Versuchen mit Azetylcholin (Tabelle 1) seien die Durchschnittswerte in Abb. 1 angeführt, aus der zu ersehen ist, daß die Dehnungskurve des stillstehenden Herzens nicht, die Kurve der isotonischen Kontraktionsmaxima in dem Sinne stark verschoben wird, daß jetzt die Schlagvolumina sehr erheblich kleiner geworden sind.

2. Adrenalin. Diese 5 Versuche (Tabelle 2) ergaben ein gleiches Verhalten der Ruhedehnungskurve, die kaum eine Veränderung zeigt, während die isotonischen Kontraktionsmaxima gering erhöht sind, wie sich aus Abb. 1 ersehen läßt, die ebenfalls die Durchschnittswerte wiedergibt.

Es läßt sich also durch *Anwendung* der *Überträgerstoffe Azetylcholin* und *Adrenalin* vom Nerven zum Muskel *am* stillstehenden *Froschherzen keine Beeinflussung der Ruhedehnungskurve* feststellen. Es sei denn, daß man nach Adrenalindurchströmung des Präparats eine geringe Erniedrigung, nach Azetylcholin eine kaum wahrnehmbare Erhöhung der Minima und damit der Dehnbarkeit oder Elastizität ersehen möchte, wie ja auch W. R. Hess[7], S. 93, beim künstlich ernährten, freischlagenden Kaninchenherzen nach Adrenalin ein nicht

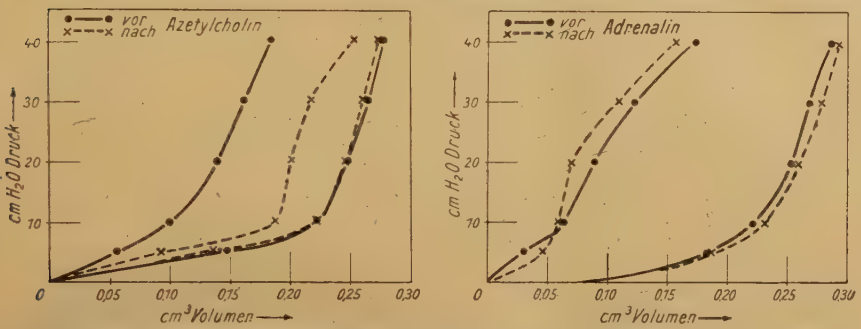


Abb. 1. Einwirkung von Azetylcholin (0,0125 γ-%) und Adrenalin (25—50 γ-%) auf die Ruhedehnungskurve und die Kurve der isotonischen Kontraktionsmaxima des isolierten Froschventrikels.

immer nachweisbares Absinken der diastolischen Fußpunkte fand und sie als Änderung des Herztonus deutet; auch Fleisch und Tomaszewski[25] wiesen am isotonisch schlagenden Froschherzen ebenfalls

Tabelle 1. *Dehnungskurve des ruhenden Herzens und Schlagvolumina nach Azetylcholin 0,0125 γ-%. Isolierte Kammer; Öffnungsschlag; isotonische Kontraktion. Zuerst nach Ringerdurchströmung (normal), dann $^1/_2$ Stunde nach Azetylcholindurchströmung (Azetylcholin).*

	ccm diastolisches Volumen bei Fülldrucken von cm H_2O						ccm Schlagvolumen bei Fülldrucken von cm H_2O					
	0	5	10	20	30	40	0	5	10	20	30	40
normal . . .	0	0,130	0,230	0,270	0,300	0,310	0	0,060	0,110	0,130	0,140	0,140
Azetylcholin	0	0,115	0,225	0,245	0,255	0,255	0	0,040	0,050	0,060	0,060	0,040
normal . . .	0	0,110	0,130	0,140	0,150	0,160	0	0,110	0,130	0,130	0,130	0,130
Azetylcholin	0	0,110	0,140	0,150	0,160	0,165	0	0,010	0,015	0,010	0,015	0,015
normal . . .	0	0,215	0,285	0,325	0,335	0,345	0	0,130	0,160	0,150	0,140	0,130
Azetylcholin	0	0,190	0,260	0,300	0,320	0,330	0	0,100	0,070	0,100	0,090	0,090
normal . . .	0	0,135	0,240	0,255	0,275	0,285	0	0,060	0,165	0,120	0,090	0,070
Azetylcholin	0	0,135	0,240	0,265	0,285	0,290	0	0,040	0,045	0,050	0,050	0,050
normal . . .	0	0,080	0,140	0,155	0,170	0,185	0	0,045	0,085	0,065	0,045	0,035
Azetylcholin	0	0,090	0,140	0,155	0,170	0,185	0	0,020	0,020	0,005	0,010	0,015
normal . . .	0	0,210	0,310	0,340	0,360	0,370	0	0,150	0,090	0,060	0,060	0,055
Azetylcholin	0	0,160	0,330	0,350	0,360	0,370	0	0,040	0,030	0,040	0,020	0,020

Tabelle 2. *Dehnungskurve des ruhenden Herzens und Schlagvolumina nach Adrenalin 50 γ-%. Isolierte Kammer; Öffnungsschlag; isotonische Kontraktion. Zuerst nach Ringerdurchströmung (normal), dann ½ Stunde nach Adrenalindurchströmung (Adrenalin).*

	ccm diastolisches Volumen bei Fülldrucken von cm H_2O						ccm Schlagvolumen bei Fülldrucken von cm H_2O					
	0	5	10	20	30	40	0	5	10	20	30	40
normal . .	0	0,180	0,200	0,220	0,230	0,245	0	0,160	0,155	0,150	0,130	0,12
Adrenalin .	0	0,180	0,215	0,230	0,245	0,250	0	0,160	0,195	0,190	0,185	0,17
normal . .	0	0,225	0,270	0,290	0,305	0,330	0	0,190	0,225	0,225	0,220	0,11
Adrenalin .	0	0,240	0,280	0,300	0,320	0,330	0	0,140	0,190	0,220	0,230	0,12
normal . .	0	0,170	0,220	0,250	0,270	0,280	0	0,155	0,160	0,165	0,160	0,14
Adrenalin .	0	0,170	0,220	0,250	0,280	0,300	0	0,150	0,200	0,225	0,160	0,16
normal . .	0	0,160	0,240	0,270	0,290	0,305	0	0,110	0,140	0,150	0,155	0,10
Adrenalin* .	0	0,155	0,255	0,285	0,305	0,315	0	0,110	0,180	0,190	0,175	0,15
normal . .	0		0,185	0,230	0,250	0,270	0		0,115	0,130	0,070	0,08
Adrenalin* .	0		0,195	0,230	0,250	0,260	0		0,115	0,125	0,110	0,07

* *2 Versuche mit 2,5 γ-% Adrenalin.*

niemals eine Abnahme des Herzvolumens durch Adrenalin, sondern — wenn überhaupt — eine leichte Zunahme nach, ferner war eine Änderung des diastolischen Volumens des schlagenden Herzens durch Azetylcholin zu vermissen. Der vorliegende experimentelle Befund steht in Übereinstimmung mit denjenigen von Gaskell[14, 16 u. 17], Frank[1], Hofmann[13], Fleisch und Tomaszewski[25] und Bauereisen und Reichel[12] und ergänzt sie zu der Zusammenfassung, daß Reizungen des Vagus und Accelerans ebenso wie auch Einwirkungen der humoralen Überträgerstoffe Azetylcholin und Adrenalin auf die Ruhedehnungskurve und Elastizitätsverhältnisse des Kaltblüterventrikels keine verwertbaren Einflüsse ausüben.

Die Maxima des tätigen Herzmuskels dagegen zeigen — wie bildlich dargestellt — Veränderungen im Sinne einer positiven und negativen Inotropie, indem der Überträgerstoff Adrenalin eine mäßige Steigerung der Kontraktionsmaxima, Azetylcholin dagegen eine erhebliche Verkleinerung der isotonischen Zuckungshöhe bewirkt. Diese Ergebnisse befinden sich in Übereinstimmung derjenigen von Frank[1], Straub[26], Bauereisen und Reichel[12] (Reizung der vegetativen Nerven), Bauereisen und Reichel[12], Matthiessen und Rothkopf[24] (Adrenalin) sowie Fleisch und Tomaszewski[25] (Acetylcholin). Daß die positiv inotrope Adrenalinwirkung der Zuckungsmaxima nur mäßig ausgedrückt war, liegt daran, daß die im Versuch angewandten Herzen offenbar noch ausreichend suffizienz waren, denn nach Ukolowa[27] ist der positiv inotrope Adrenalineffekt um so größer, je geschwächter die Herzen sind.

Der Wert der Feststellungen am Froschherzen von Eismayer und Quincke[28], die unter anderem eine „Tonus"zunahme durch Adrenalin fanden, wird durch

die unphysiologisch hohen Dosen des Adrenalins entkräftet, worauf übrigens schon W. R. Hess [7] hingewiesen hat. Auch H. Straubs Befunde werden als Stütze für die Annahme einer Tonusbeeinflussung herangezogen. Es läßt sich jedoch aus seiner Veröffentlichung [26] entnehmen, daß auch bei ein und demselben Experimentator durchaus keine Reproduzierbarkeit der „tonotropen Vaguswirkung" am im Verband mit dem Organismus gebliebenen Säugerherzen (Kaninchen) besteht; es werden 3 Kurven abgebildet, aus denen aus den Änderungen des diastolischen Herzvolumens bei Vagusreiz nicht eine negativ tonotrope Wirkung abgeleitet werden könnte, weil hier während langdauernder Diastole der Kammerdruck trotz zunehmender Füllung nicht abnimmt. Ähnlich verhält es sich mit den Versuchen an Hundeherzen in situ von Johnson und Katz [29].

Delius und Reindell [30] haben auf Grund ihrer klinischen und röntgenologischen Untersuchungen (Reindell [31]) erneut auf die Herzgrößenänderungen unter körperlicher Belastung hingewiesen, die in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Moritz [32] und Dietlen [33] u. a. und dem Hinweis von Eismayer und Quincke [28] in einem Kleinerwerden des gesunden Herzens bei und nach Körperarbeit bestehen und die demnach einen Widerspruch zum Frank-Straub-Starlingschen Herzgesetz darzustellen scheinen, nach dem mit zunehmender Anfangsspannung des Ventrikelmuskels eine Herzvergrößerung gefordert werden müßte. Delius und Reindell [30] konnten ein wechselndes und erhebliches systolisches Restvolum (nach ihren Angaben Restvolum: Schlagvolum 2:1) auch bei gesunden Herzen nachweisen und somit die Kenntnisse über die Herzdynamik erweitern.

Nach unseren experimentellen Befunden am Froschherzen kann eine „Tonus"änderung durch extrakardiale Herznervenwirkung zur Erklärung dieser Größenänderungen offenbar nicht herangezogen werden, da sich eine solche nicht nachweisen läßt. Voraussetzung hierbei ist allerdings, daß man die Dehnungskurve des *ruhenden* Herzens mit dem sog. Tonus des Herzmuskels identifiziert, was auch Hermann Straub [34] tut. Denn die (isotonischen und isometrischen) Minima des tätigen Herzens liegen nach O. Frank höher als die Ruhedehnungskurve [34]. Es ist demnach die Frage zu stellen, ob zu Ende der Diastole tatsächlich die Ruhedehnung des Ventrikels erreicht wird oder nicht — und es ist das letztere nach dem Frankschen Befund zu schließen —, ob also Tätigkeitsart und Frequenz der vorausgegangenen Systolen einen Einfluß auf die Größe der diastolischen Füllung des Herzens gewinnen oder ob der Füllungsvorgang unabhängig davon vor sich geht.

Eine Eigenschaft des tätig gewesenen Muskels ist der sog. Kontraktionsrückstand, der oberhalb einer bestimmten Frequenz des Herzens natürlich die Diastole unvollständig werden läßt. Eismayer und Quincke [28] haben diese „kritische Frequenz" beim Frosch mit 40—60/Min. bestimmt, Broemser [35] glaubt sie mit 86/Min. errechnen zu müssen.

Daß dagegen beim Menschen tatsächlich die diastolische Füllung zu Ende der Herzerschlaffung effektiv nicht beendet ist, zeigen bei röntgenkymographischen Aufnahmen die normalen Randbewegungen des gesunden menschlichen Ventrikels, auch wenn eine Bradykardie vorliegt (Pl. Stumpf[36]). Rothberger[37] diskutiert diese Verhältnisse ebenfalls im gleichen Sinne (1926). Damit gewinnt die Herzfrequenz einen nicht zu unterschätzenden Einfluß auf die diastolische Herzfüllung, wie auch von Chiardi[38] gezeigt wurde, nämlich daß eine Herzfrequenzerhöhung von einer Verkleinerung der diastolischen Füllung gefolgt ist.

Auch erleidet der Muskel als unvollkommen elastischer Körper infolge der Viskosität seines Substrats bei der Dehnung einen Energieverlust, der wie das Maximum der entstandenen Spannung von der Geschwindigkeit der Dehnung abhängig ist (Fenn[39]), Veränderungen, die durch den Füllungsvorgang des Herzens bedingt werden und die Blix[40] zu den Begriffen wie Nachspannung, Nachdehnung, Nacherschlaffung und Nachschrumpfung führten; es ist in Zusammenhang mit der Größe des diastolischen Volumens auch an die klinotropen Effekte Bohnenkamps[41] zu denken. Für weitere, die Herzdiastole beeinflussende Umstände — sie können sich sogar gegensinnig auf das diastolische Herzvolumen auswirken — sei auf die Analysen von Eismayer und Quincke[8,28] hingewiesen. Der Elastizitätsmodul des Herzens, das bei kleinen Spannungen dehnbarer ist als bei großen, ist ähnlich dem der Skeletmuskulatur, jedoch wesentlich kleiner (Wöhlisch und Clamann[42]).

Es ist nach dem Vorschlag von Eismayer und Quincke[28] recht vorteilhaft, nur vom „effektiven diastolischen Volumen" des tätigen Herzens zu sprechen, im Gegensatz zum „wahren diastolischen Volumen" des ruhenden. Selbst innerhalb einer langsamen normalen Frequenz ist also durchaus damit zu rechnen, „daß bis weit in die Diastole hinein ein ziemlich beträchtlicher Kontraktionsrückstand bestehen bleibt und daß das Herz auch normalerweise nur sehr allmählich erschlafft" (H. Straub[11]). Vor allem ist aber die Zahl der Herzkontraktionen in der Zeiteinheit für die Größe des effektiven diastolischen Herzvolumens heranzuziehen. Es ist daraus zu folgern, daß es die extrakardiale Beeinflussung (durch das vegetative Nervensystem) der Frequenz und der Kontraktionsmaxima ist, die — nur scheinbar — Unstimmigkeiten der genannten Art mit den klassischen Herzgesetzen bewirkt. Unabhängig vom effektiven diastolischen Herzvolumen ermöglicht aber die von Delius und Reindell[30] beschriebene erhebliche Restblutmenge eine Steigerung des Schlagvolumens ohne Herzvergrößerung (unter Umständen sogar trotz Herzverkleinerung) und umgekehrt, die wir auf eine Einwirkung des vegetativen Nervensystems auf die Kontraktionsgröße der einzelnen Systolen und deren zeitliche Aufeinanderfolge zurückführen, nachdem Veränderungen der elastischen Verhältnisse des erschlafften Herzens als Ursache hierfür experimentell von uns ausgeschlossen werden konnten.

Hinzu kommt noch die Möglichkeit der orthotischen Blutverschiebungen während und nach der körperlichen Arbeit (J. Frey [43], dort weitere Literatur), die die Herzgröße durchaus beeinflussen kann, wie z. B. Nylin, Sällström und Agren [44] durch Herzgrößenbestimmungen aufzeigen konnten (Abb. 16): während das Herzvolumen in Ruhe beim Sitzen mit 540 ccm bei einer Versuchsperson bestimmt wurde, trat während leichter Arbeit der Beine eine Herzvergrößerung auf 580 ccm, während anstrengender Beinarbeit (ebenfalls im Sitzen) eine solche auf 650 ccm auf; dagegen verkleinerte sich das Herz nach Arbeit im Sitzen auf 490 ccm Volumen. Hier hat ein vermehrter Blutaufstau in den noch gefäßerweiterten Beinen, die vorher gearbeitet haben, stattgefunden (z. B. Mateeff [45]); der Blutentstau tritt in der starken Herzvergrößerung im Liegen zutage. Es dürfte ebenfalls die Erhöhung der Atemmittellage während und nach körperlicher Arbeit einen nicht zu übersehenden Einfluß auf den Transversaldurchmesser des Herzens im Sinne einer Verkleinerung ausüben (s. dazu z. B. Anthony [46]).

Es ist also nach unseren Experimenten die vorher gestellte Frage dahingehend zu beantworten, daß es offensichtlich der Tätigkeitsstoffwechsel und nicht der Ruhestoffwechsel des Herzmuskels ist, der rasche Änderungen des effektiven diastolischen Herzvolumens der Ventrikel vornehmlich beeinflußt und der wiederum von den extrakardialen Einwirkungen (vegetatives Nervensystem) abhängt. Art und Zeit, sowie die zeitliche Aufeinanderfolge (Frequenz) der vorausgegangenen Systolen scheint das effektive diastolische Herzvolumen zu bestimmen, während das wahre diastolische Volumen offenbar keine Veränderung erfährt. Besonders gut läßt sich die Abhängigkeit des diastolischen Volumens von der Schlagfolge aus den Froschversuchen von Zamboni [47] ersehen, der das an der Straub-Kanüle befestigte Herz mittels eines Glasmantels onkometrierte: am spontan schlagenden Herzen trat unter Azetylcholin (1 : 50 000 000) eine starke diastolische Erweiterung, unter Adrenalin das umgekehrte Ereignis ein.

2. Refraktärzeit des Ventrikels nach Azetylcholin und Adrenalin.

Nach den vorliegenden Befunden ist der Schluß erlaubt, daß die vegetativen Mittlerstoffe in erster Linie den Tätigkeitsstoffwechsel des Herzmuskels beeinflussen, wie dies in Vergrößerung und Abschwächung der isotonischen Kontraktionsmaxima zum Ausdruck kommt, während die elastischen Verhältnisse des ruhenden Ventrikels durch sie als schnelle Veränderung unbeeinflußt bleiben.

Zu den Merkmalen des Herzmuskels gehört im Gegensatz zum Skelettmuskel dasjenige, daß er sich niemals in Ruhe befindet, wenn auch seine Arbeitsweise in einem rhythmischen Wechsel zwischen Einzelzuckung und Erschlaffung besteht. Der tätige Herzmuskel ist durch den Wechsel seiner Reizansprechbarkeit ausgezeichnet, die unter anderem in einer geänderten Refraktärzeit besteht.

Vagusreiz verkürzt die Refraktärzeit des Froschherzens, während diese Wirkung auf das Hundeherz nicht in jedem Fall ausgeprägt sein soll; Sympathicusreiz dagegen wirkt verlängernd auf die Refraktärperiode, wie es von Hayashi [50]

auch für das Adrenalin gefunden wurde. Beim Aal wirkt Azetylcholin verkürzend, Adrenalin verlängernd auf Chronaxie und Refraktärzeit (Barry, Chauchard, Chauchard und Chauchard[51]). Die Beeinflussung der Refraktärperiode des Vorhofs ist dabei eine ungleich stärkere als die des Ventrikels. Die Literatur hierüber und die Einzelheiten sind aus dem Rothbergerschen Handbuchartikel zu ersehen[52]. Nach Kanda[53] ist die Refraktärphase unter dem Einfluß einer Azetylcholinlösung 1:100000 stark verkürzt, Cohn und Macledo[54] fanden ähnliches. Die Refraktärzeit hängt aber nach Trendelenburg[55] auch von der Länge der vorausgegangenen Diastole ab: verkürzt man für den Froschventrikel den Zeitintervall, der nur gering länger als die Refraktärphase ist, allmählich immer mehr, so folgt das Herz dieser schneller werdenden Reizung mit Verkürzung der Refraktärzeit, während bei sofortiger Anwendung einer Reizfrequenz, die kürzer als die Refraktärphase ist, das Herz nur mit der halben Zuckungszahl geantwortet hätte.

Im Zusammenhang mit der aufgeworfenen Frage nach der vegetativ-nervösen Beeinflussung der Stoffwechselvorgänge im Herzmuskel ist es von Wichtigkeit, die Wirkung von Azetylcholin und Adrenalin auf die Refraktärzeit des Froschventrikels zu untersuchen.

Methode. Um Verschiedenheiten bei der Reizung des Vorhofs oder des Ventrikels auszuschließen, wurde — bis auf einige orientierende Versuche mit Adrenalin — immer die isolierte stillstehende Kammer gereizt, wobei sich der Abstand der beiden Zeitsignale genauer feststellen ließ als der Abstand des Extrareizes vom Beginn der normalen Systole. Dabei mußte in Kauf genommen werden, daß der Ventrikel viel weniger als der Vorhof in seiner Refraktärzeit veränderlich war (s. oben). Auch scheint die refraktäre Periode des Ventrikels länger zu sein als die des Vorhofs. Dabei wurde die Kammer, wie in den vorausgegangenen Versuchen, in den meisten Experimenten mit einer doppelläufigen Kanüle dauernd durchströmt, wobei eine Capillare am Ende des Auslaufs als Widerstand diente. Der Reiz bestand in einem Öffnungsinduktionsschlag unter Abblendung des Schließungsschlages. Durch gleichzeitige Zeitschreibung ließ sich die Refraktärzeit in Sekunden angeben, und zwar mit einem Fehler von 0,05 Sek. Eine größere Genauigkeit erübrigte sich, da die Refraktärzeit selbst über diese Größe hinaus wechselte. Dies könnte daran liegen, daß sie auch von der vorhergehenden Pause (s. oben) abhängig ist; danach würde eine lange Pause die Refraktärzeit verlängern. Aber es zeigte sich, daß solcher Wechsel in der Refraktärzeit bei einer Feststellung, welche etwa 5 Min. in Anspruch nahm, keineswegs nur von der Länge der vorausgegangenen Pause abhängig ist: 20mal wurden solche Verschiedenheiten beobachtet, bei denen nach vorausgegangener langer Reizpause die Refraktärzeit als lang ermittelt werden konnte, während 8mal die Refraktärzeit trotz vorausgegangener langer Pause kürzer gefunden wurde. Und auch bei Reizungen in genau dem gleichen zeitlichen Abstand voneinander, also gewissermaßen in einem bestimmten Rhythmus wie beim spontan schlagenden Herzen, ergaben sich solche Unterschiede in der Refraktärzeit. Außerdem zeigten die Versuche, daß die Refraktärzeit von Frosch zu Frosch recht verschieden waren (Winter 1946/47). Im allgemeinen jedoch scheinen größere Kontraktionen auch eine längere Refraktärzeit zu hinterlassen, was wiederum als wichtig für den Einfluß des vegetativen Nervensystems auf den Muskelstoffwechsel des Herzens angesehen werden muß.

1. Azetylcholin.

a) Einmalige Einfüllung der Azetylcholin-Ringerlösung in den Froschventrikel in einer Konzentration von 10 γ-% Azetylcholin. 5 Versuche. Bestimmung der

Refraktärzeit und der Kontraktionshöhe in Millimeter bei Ringerfüllung und nach Einfüllung einer 10 γ-%igen Azetylcholinlösung nach 5, 15, 30 und 45 Min.

Tabelle 3. *Einmalige Einfüllung von 10 γ-% Azetylcholin.*

Normal		Nach 5 Min.		Nach 15 Min.		Nach 30 Min.		Nach 45 Min.	
Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm
0,56	15,0	0,36	12,0	0,26	6,0	0,44	13,0	—	—
1,08	13,0	0,66	3,0	0,50	6,0	0,63	12,0	0,50	10,0
0,60	10,5	0,48	10,0	0,48	10,5	0,42	7,0	—	—
1,26	19,0	—	—	1,08	16,5	1,02	15,0	1,08	11,0
1,80	15,5	—	—	1,56	12,5	1,56	13,0	—	—

Bei Kleinerwerden der Kontraktionen ist also die Refraktärzeit anfangs durch Azetylcholin deutlich verkürzt, wie besonders aus einer Durchschnittsberechnung zu erkennen ist: ohne Azetylcholin beträgt die Refraktärzeit 1,06 Sek. bei einer Kontraktionsgröße von 14,6 mm, um 5 Min. nach Einfüllung einer 10γ-%igen Azetylcholinlösung sich auf ungefähr die Hälfte zu verkürzen und die Kontraktionsgröße sich auf fast die Hälfte zu verkleinern. Die schon nach 15 Min. einsetzende Zunahme der Zuckungshöhe und Wiederverlängerung der Refraktärzeit könnte auf eine Zerstörung des Azetylcholins durch die Esterase zurückgeführt werden; ein Zusatz von Prostigmin, der die Zerstörung des Azetylcholins verhindert, wurde jedoch nicht ausgeführt.

b) In den folgenden Versuchen wurde daher die Kammer dauernd mit Azetylcholinlösung verschiedener Konzentrationen (10—0,01 γ-%) durchströmt.

Tabelle 4. *Durchströmung der isolierten Kammer mit Azetylcholinlösung.*

Azetylcholinkonzentration	Normal		Nach 5 Min.		Nach 15 Min.		Nach 30 Min.		Nach 45 Min.		30 Min. Ringer	
γ-%	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm
0,01	0,79	4,0	—	—	0,65	4,0	0,69	4,0	0,72	4,0	0,62	3,5
0,1	0,92	3,5	0,66	3,5	0,81	3,5	0,90	3,5	0,87	3,5	1,32	3,5
0,1	0,76	11,5	0,60	10,5	0,63	10,5	0,64	12,0	0,64	12,5	0,88	12,0
1,0	0,69	3,5	0,56	2,5	0,74	2,5	0,42	2,0	0,46	1,0	1,30	6,5
10,0	0,33	8,0	0,23	2,5	0,20	1,0	0,26	0,5	0,28	0,0	1,07	8,5
Durchschnitt	0,70	6,1	0,51	4,7	0,55	4,3	0,58	4,4	0,59	4,2	1,04	6,8
Ringer . . .	0,96	10,5	—	—	0,96	11,0	—	—	1,15	12,0	1,03	12,0

Auch hier zeigt sich also eine verkürzte Refraktärzeit bei Kleinerwerden der Kontraktionshöhe. Beides verschwindet nach halbstündiger

Ringerspülung: die Refraktärzeit nimmt wieder zu und ebenso die Zuckungshöhe, manchmal über die Anfangswerte (bei 0,01 γ-% liegt wohl die Grenze der Wirksamkeit). Azetylcholin verkürzt also die Refraktärzeit, wie dies schon vom Vagusreiz bekannt ist und hat eine negativ inotrope Wirkung, zwei Reaktionen, die für die Deutung der vegetativen Beeinflussung des Muskelstoffwechsels von Wichtigkeit sind. Es verhält sich demnach der vagale Überträgerstoff Azetylcholin genau so wie eine Reizung des Nervus vagus selbst.

2. Adrenalin.

Unter weitgehender Veränderung der Adrenalinkonzentrationen (1—100 γ-%) wurde die Wirkung dieses Stoffes auf Refraktärzeit und Kontraktionsgröße am STRAUB-Herzen und an der isolierten Kammer bei einmaliger Füllung und bei Durchströmung ermittelt, wovon die Tabellen 5—8 Auskunft geben.

Tabelle 5. *Bestimmung von Refraktärzeit und Kontraktionshöhe am* STRAUB-*Herzen nach einmaliger Einfüllung der Adrenalinlösungen.*

Adrenalinkonzentration	Normal		Nach 10 Min.		Nach 30 Min.		Nach 60 Min.	
γ-%	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm
5	0,32	13,5	0,32	14,0	0,32	14,5	—	—
10	0,96	13,0	0,72	15,5	0,54	9,5	0,48	11,0
10	0,30	15,5	—	—	0,36	16,0	0,36	16,5
15	0,42	11,0	0,44	12,0	—	—	—	—
50	0,20	15,0	0,19	15,5	—	—	—	—
100	0,38	14,0	0,44	15,0	0,42	16,0	0,38	17,5
Durchschnitt	0,43	13,7	0,42	14,4	0,41	14,0	0,41	15,0

Tabelle 6. *Bestimmung von Refraktärzeit und Kontraktionshöhe an der isolierten Kammer bei einmaliger Einfüllung der Adrenalinlösungen.*

Adrenalinkonzentration	Normal		Nach 15 Min.		Nach 30 Min.		Nach 45 Min.	
γ-%	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm	Refraktärzeit Sek.	Kontraktionshöhe mm
100	1,17	19,0	1,20	19,0	—	—	1,20	19,0
100	1,19	17,0	0,67	18,0	0,72	20,0	0,70	20,5
100	0,44	11,0	0,54	15,5	—	—	0,67	14,0
100	0,42	7,0	0,45	8,0	—	—	—	—
100	0,84	16,0	0,84	16,0	0,96	17,0	0,75	17,5
100	0,42	11,0	0,77	13,0	—	—	—	—
100	1,32	12,0	1,62	13,0	—	—	—	—
100	0,84	11,0	1,02	11,5	—	—	0,92	10,0
Durchschnitt	0,83	13,0	0,89	14,1	0,84	18,3	0,85	16,2

Tabelle 7. *Bestimmung der Refraktärzeit und Kontraktionshöhe bei Durchströmung der Herzkammer mit 10 γ-% Adrenalin.*

Adrenalinkonzentration	Normal		Nach 15 Min.		Nach 30 Min.		Nach 45 Min.		Nach 30 Min. Ringer	
γ-%	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm
10	1,12	5,5	1,12	5,5	1,12	4,0	1,12	4,7	1,19	5,5
10	0,76	10,0	0,72	14,0	0,78	14,5	0,76	15,0	0,84	17,0
10	0,62	5,5	0,68	5,5	0,63	5,5	0,68	5,0	0,96	5,0
10	0,42	2,5	0,43	3,5	0,48	3,0	0,44	3,5	0,49	3,5
10	0,60	6,0	0,60	6,8	0,60	7,3	0,45	7,0	0,45	6,0
Durchschnitt	0,70	5,9	0,71	7,1	0,72	6,9	0,69	7,0	0,79	7,4

Tabelle 8. *Bestimmung der Refraktärzeit und Kontraktionshöhe bei Durchströmung der Herzkammer mit 1 γ-% Adrenalin.*

Adrenalinkonzentration	Normal		Nach 15 Min.		Nach 30 Min.		Nach 45 Min.		Nach 30 Min. Ringer	
γ-%	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm	Refraktärzeit in Sek.	Kontraktionshöhe in mm
1	0,75.	4,5	0,76	4,5	0,89	4,5	0,99	4,5	0,87	5,0
1	0,73	7,5	0,83	8,0	1,17	8,5	1,16	8,5	1,03	8,5
1	0,65	10,5	0,46	11,0	0,72	10,5	0,69	9,5	0,78	8,0
1	0,42	5,0	0,42	5,2	0,62	5,7	0,65	6,0	0,63	3,2
1	0,61	6,2	0,78	6,0	1,08	5,2	1,04	5,7	0,77	5,2
Durchschnitt	0,63	6,7	0,65	6,9	0,90	6,9	0,90	6,8	0,82	6,0

Die Refraktärzeit war also in allen höheren Konzentrationen gleich geblieben, nur in der letzten Versuchsreihe mit 1 γ-% war sie in allen Fällen verlängert; hierbei sind die Kontraktionen nur unwesentlich erhöht gewesen, während in den stärkeren Lösungen die Vergrößerung der Kontraktionen deutlicher ausgesprochen war. Es ist also der Einfluß des Adrenalins keineswegs so deutlich wie der des Azetylcholins, wie wir auch in den anfänglichen Versuchsreihen feststellen mußten.

3. Besprechung der Ergebnisse.

Die vorliegenden experimentellen Befunde zeigen, daß die vegetativen Überträgerstoffe Azetylcholin und Adrenalin wie die Nervenreizungen selbst in den Tätigkeitsstoffwechsel des Herzens eingreifen, indem die Kontraktionsgröße (isotonische Kontraktionsmaxima) des Froschventrikels und die Refraktärzeit verkürzt und verlängert wird. Diese Feststellungen schließen keineswegs aus, daß auch der ruhende (erschlaffte) Ventrikel in seinen Umsetzungen durch die extrakardialen Nerven beeinflußt wird.

Die Experimente ergaben keinen Hinweis, daß die Elastizität des ruhenden Herzmuskels durch zeitlich begrenzte Einwirkung der vegetativen Überträgerstoffe verändert würde, daß — präziser ausgedrückt — die Ruhedehnungskurve sich durch Azetylcholin und Adrenalin ändere. Es läßt sich demnach eine echte sogenannte tonotrope Wirkung nicht feststellen, wie sie verschiedentlich auch aus Experimenten geschlossen wurde. Vielmehr lassen sich Hinweise gewinnen, daß es eine Reihe von Möglichkeiten gibt, die das effektive diastolische Volumen des schlagenden Herzens (Eismayer) beeinflussen: Kontraktionsrückstand, Schlagfrequenz, Schnelligkeit der Kontraktion usw., also alles Umstände, die von der Art und der zeitlichen Aufeinanderfolge der Systolen herrühren; es kommen noch hydrostatische Blutverschiebungen und Änderungen des Atemmechanismus (Atemmittellage usw.) hinzu, die ebenfalls Einfluß auf die Herzgröße haben.

Auch die Überträgerstoffe Azetylcholin und Adrenalin beeinflussen — wie gesagt — den Tätigkeitsstoffwechsel in gleicher Weise wie die Reizung von Parasympathicus und Orthosympathicus selbst. Es war in unseren Versuchen die Wirkungsweise von Azetylcholin und Adrenalin zwar eine gegensätzliche, indem Azetylcholin eine negative Inotropie hervorrief und die Refraktärzeit verkürzte, Adrenalin positiv inotrop wirkte und die Refraktärzeit verlängerte. Aber diese letzte Wirkung des Adrenalins zeigte sich nur in sehr verdünnten Lösungen bei 1 γ-%, während höhere Konzentrationen keinen Einfluß auf die Refraktärzeit hatten. Es besteht also im Groben der Gegensatz von Azetylcholin und Adrenalin im Sinne des gebräuchlichen Schemas, aber im Einzelnen scheinen die Verhältnisse komplizierter zu liegen und sich die Wirkungen nicht immer reziprok zu verhalten; der Einfluß auf die kettenartig ablaufenden chemischen Reaktionen des Muskelstoffwechsels läßt ein Eingreifen von Azetylcholin und Adrenalin an verschiedenen Stellen vermuten. Also selbst am isolierten Organ kann ein absoluter Antagonismus der beiden vegetativen Systeme nicht in allen Fällen gefunden werden, was mehr im Sinne eines Synergismus der Systeme anzusehen ist. Experimentiert oder untersucht man am Gesamtorganismus (was manchmal in fast orthodoxer Weise gefordert wird), so treten eine Reihe von Gegenreaktionen in den Vordergrund und komplizieren einen Reizeffekt; hierauf ist nicht zuletzt mancher Widerspruch in der Literatur zurückzuführen.

Es kann nun im allgemeinen die Dauer der Refraktärzeit im umgekehrten Sinn als ein Maß für die Erholungsvorgänge des Muskels (hier speziell des Herzmuskels) dienen und für das Verständnis des inotropen Effekts der vegetativen Nerven und deren Überträgerstoffe herangezogen werden: eine kurze Refraktärzeit (Azetylcholin-Vagus)

zeigt beschleunigte Wiederherstellung der Arbeitsfähigkeit, eine verlängerte Refraktärphase (Adrenalin-Orthosympathicus) eine verzögerte Erholung an. Es wird dann auch das verringerte Kontraktionsmaximum (negative Inotropie) bei gleichzeitig verkürzter Refraktärzeit als Folge eines Parasympathicusreizes oder einer Azetylcholineinwirkung einerseits, ein erhöhtes Kontraktionsmaximum (positive Inotropie) bei

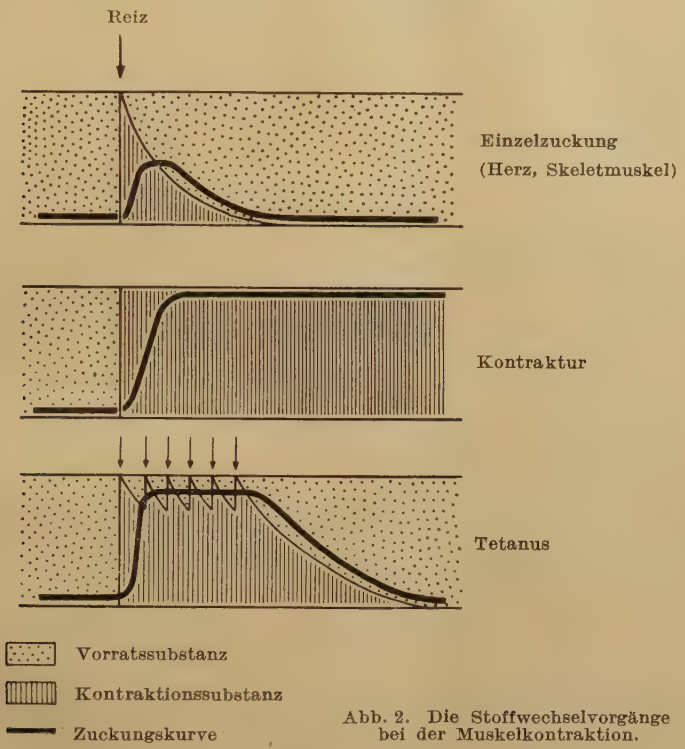


Abb. 2. Die Stoffwechselvorgänge bei der Muskelkontraktion.

gleichzeitig verlängerter (nicht immer nachweisbarer) Refraktärphase als Folge eines Orthosympathicusreizes oder einer Adrenalineinwirkung andererseits verständlich. Wenn bei der Muskeltätigkeit und der des Herzens ein Wiederaufbau der die Kontraktion auslösenden Substanzen erfolgt, wie man es aus den entsprechenden Experimenten weiß (siehe z. B. die zusammenfassende Darstellung von Verzár[56]), so besteht das Schema wohl zu Recht, das von E. Frey 1920[57] aufgestellt wurde: aus einer in Bereitschaft gehaltenen Vorratssubstanz wird beim Reiz explosionsartig eine Kontraktionssubstanz frei, welche die Längenänderung der Muskelkolloide im Sinne einer Verkürzung auslöst. Diese Kontraktionssubstanz wird nach ihrer momentanen Entstehung schnell wieder zur Vorratssubstanz aufgebaut und gerade

in diesem Vorgang der Resynthese greift das vegetative Nervensystem (Parasympathicus mit seinem Überträgerstoff Azetylcholin und Orthosympathicus mit seinem Überträgerstoff Adrenalin) fördernd und bremsend ein, indem Azetylcholin-Parasympathicus die Resynthese beschleunigt (histo- oder trophotroper, anaboler, assimilatorischer Effekt), Adrenalin-Orthosympathicus (ergotroper, kataboler, dissimilatorischer Effekt) sie verzögert. Dies läßt sich aus der Länge der Refraktärzeit schließen. Wenn nun die Resynthese der Kontraktionssubstanz zur Vorratssubstanz verzögert wird (Adrenalin - Orthosympathicuswirkung), so wird bei der Einzelzuckung verhältnismäßig mehr Kontraktionssubstanz zur Verfügung stehen, als bei beschleunigter Resynthese durch Azetylcholin - Parasympathicuswirkung; es muß demnach das Kontraktionsmaximum bei Adrenalin - Orthosympathicusreiz höher liegen als bei Azetylcholin - Parasympathicusreiz, da sich die Refraktärzeit als zeitliches Maß des Resynthesevorganges umgekehrt verhält (Verkürzung bei negativer Inotropie und umgekehrt). Durch diese Auffassung der allgemeinen chemischen Umsetzungen bei der Muskelkontraktion läßt sich das als Gegensatz aufgefaßte Verhalten der Refraktärzeit zur Kontraktionshöhe gut deuten. „Dabei ist der Wiederaufbau der Betriebssubstanz der eigentliche Lebensvorgang; ist er gänzlich aufgehoben, so tritt die Kontraktur ein“ (E. Frey [5]), wie es bei der Azetylcholinkontraktur der Fall zu sein scheint (Riesser [58]). Durch eine schematische Darstellung (Abb. 2) wird das Gesagte für die Einzelzuckung (Skelettmuskel, Herz) sowie für die Kontraktur und den Tetanus (Skelettmuskel) verdeutlicht und es geht daraus auch hervor, daß das Kontraktionsmaximum für die Kontraktur und den Tetanus höher liegen muß, da hierbei mehr Kontraktionssubstanz vorhanden ist. Abb. 3 bringt die vegetative Beeinflussung der *Herz*einzelzuckung durch Vagus und Sympathicus und ihre Überträgerstoffe, wie sie sich durch unsere Experimente nachweisen ließen.

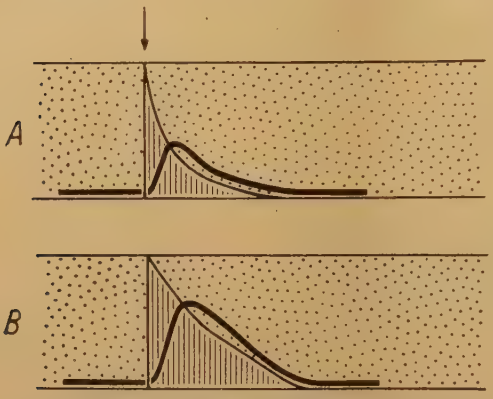


Abb. 3. Die Stoffwechselvorgänge der Einzelzuckung des Herzens bei Einwirkung der vegetativen Nerven: *A* Verkürzte Refraktärzeit mit erniedrigtem Kontraktionsmaximum (negative Inotropie) durch Azetylcholin-Vaguswirkung; *B* Verlängerte Refraktärzeit mit erhöhtem Kontraktionsmaximum (positive Inotropie) durch Adrenalin-Sympathicuswirkung.— Zeichenerklärung s. Abb. 2.

Einen zweiten Einfluß auf die Refraktärzeit, also auf die Resynthesevorgänge oder Erholungsphase, scheint die Größe der Kontraktion zu haben. Es sieht so aus, als hinterlasse eine Kontraktion Schlacken, die erst abdiffundieren müssen, so daß auf eine große Zuckung eine kleine folgt, wie bei mechanischem Pulsus alternans; ebenso sind nach längeren Pausen größere Kontraktionen anzutreffen, wie z. B. bei einer nach kompensatorischer Pause folgenden normalen Systole auf eine Extrasystole. Auf diese Weise erklärt sich auch der oben erwähnte Befund von TRENDELENBURG[55], daß bei schneller Reizfolge die Refraktärzeit kürzer wird, weil bei einer solchen die Zuckungen kleiner ausfallen als bei langsamer, nicht aber deswegen, weil die Pausen vorher kürzer geworden sind. Dies steht nur scheinbar im Widerspruch zu der mit Frequenzerhöhung verbundenen positiv inotropen Orthosympathicuswirkung. Auch könnte die klinotrope Wirkung (BOHNENKAMP[41]) mit der Geschwindigkeit der Abdiffusion von Schlackenstoffen (CO_2, Milchsäure usw.) während der Kontraktion in Verbindung gebracht werden.

Zusammenfassung.

Untersuchungen am stillgestellten Froschventrikel zeigen, daß die vegetativen Überträgerstoffe Azetylcholin und Adrenalin keinen Einfluß auf die Ruhedehnungskurve ausüben, während die isotonischen Maxima durch Acetylcholin stark vermindert, durch Adrenalin mäßig erhöht werden *.

Die *Veränderungen im effektiven diastolischen Volumen des gesunden Herzens (Herzgröße) unter Einwirkung der vegetativen Nerven oder deren Überträgerstoffe* sind demnach nicht aus einer momentanen Beeinflussung der elastischen Verhältnisse des ruhenden Herzens, sondern aus *dem Tätigkeitsstoffwechsel erklärbar*, nämlich aus der *Art der Kontraktion und der Schnelligkeit ihrer Aufeinanderfolge*; einige dieser Bedingungen werden näher auseinandergesetzt. Sie zeigen die nur scheinbare Abweichung des Verhaltens des gesunden Herzens von den klassischen Herzgesetzen auf, die letzten Endes — wie bekannt — auf dem Belassen dieses im Gefüge des Gesamtorganismus beruht.

Die veränderliche Kontraktionsgröße des Ventrikels als Folge der durch das vegetative Nervensystem zeitlich beeinflußbaren Resynthesevorgänge der Kontraktionssubstanz des Herzmuskels zur Vorratssubstanz, abgeleitet aus den Ergebnissen der Versuche über isotonische Ventrikelkontraktionen und deren Refraktärzeit, wird dargestellt.

Literatur.

[1] FRANK: Z. Biol. **32**, 371 (1895). — [2] STRAUB: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VII/1, S. 237. Berlin: Springer 1926. — [3] STARLING: Das Gesetz der Herzarbeit. Bern u. Leipzig: Ernst Bircher 1920. —

* Nach Abschluß der Arbeit erschien eine solche von E. BAUEREISEN und H. REICHEL (Klin. Wschr. **1947**, Nr. 49/50, 785), in der über isolierte Reizungen von Sympathicus und Parasympathicus am Froschherzen berichtet wird. Die Verff. kommen zu den gleichen Ergebnissen wie wir (unter anderem fehlte ein Einfluß auf die Ruhedehnungskurve). Auf diese Arbeit sei besonders verwiesen.

[4] Winterstein: Handbuch der Neurologie, Allgemeine Neurologie, Bd. II, S. 81. Berlin: Springer 1937. — [5] Wachholder: Handbuch der Neurologie, Allgemeine Neurologie, Bd. II, S. 14. — [6] Reisser: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VIII/1, S. 192. Berlin: Springer 1925. — [7] Hess: Die Regulierung des Blutkreislaufs, S. 91. Leipzig: Georg Thieme 1930. — [8] Eismayer u. Quincke: Erg. Physiol. **30**, 126 (1930). — [9] Dietlen: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VII/1, S. 506. Berlin: Springer 1926. — [10] Pendl: Pflügers Arch. **238**, 176 (1936). — [11] Straub: Arch. exper. Path. (D.) **137**, 31 (1928). — [12] Reichel: Klin. Wschr. **1946**, 6. — [13] Hofmann: Nagels Handbuch der Physiologie, Bd. I, S. 272. Braunschweig: F. Vieweg & Sohn 1909. — [14] Gaskell: Philosoph. Trans. **173**, 1021 (1882). — [15] Heidenhain: Pflügers Arch. **27**, 188 (1882). — [16] Gaskell: Festschrift für Ludwig 1887, S. 127. — [17] Gaskell: J. Physiol. (Brit.) **4**, 105 (1883). — [18] Frey, E.: Pflügers Arch. **184**, 156 (1920). — Dtsch. med. Wschr. **1922 I**, 857. — [19] Gremels: Arch. exper. Path. (D.) **182**, 1 (1936). — [20] Loewi: Pflügers Arch. **189**, 239 (1921); **193**, 201 (1921); **203**, 408 (1924). — [21] Dale: J. Physiol. (Brit.) **80**, 10 (1933). — [22] Kornmüller: Naturwiss. **1946**, 274. — [23] Spadolini e Domini: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **15**, 358 (1940). — Arch. Fisiol. (It.) **40**, 147 (1940). — [24] Matthiessen u. Rothkopf: Z. exper. Med. **110**, 578 (1942). — [25] Fleisch u. Tomaszewski: Pflügers Arch. **238**, 528 (1937). — [26] Straub: Z. exper. Med. **53**, 196 (1926). — [27] Ukolowa: Ziziol. U. **23**, 679 (1937). — [28] Eismayer u. Quincke: Arch. exper. Path. (D.) **137**, 362 (1928); **139**, 313 (1929); **140**, 340 (1929); **141**, 164 (1929). — [29] Johnson and Katz: Amer. J. Physiol. **150**, 78 (1937). — [30] Delius u. Reindell: Z. klin. Med. **143**, 29 (1943). — Dtsch. Arch. klin. Med. (im Druck). — [31] Reindell: Arch. Kreisl.forsch. **7**, 117 (1940). — [32] Moritz, Krehl-Marchand: Allg. Path. **2**, 2. — [33] Dietlen: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VII/1, S. 306. Berlin: Springer 1926. — [34] Straub: Arch. exper. Path. (D.) **137**, 31 (1928). — [35] Broemser: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch., 12. Tagg **1939**, 269. — [36] Stumpf: Röntgenkymographische Bewegungslehre innerer Organe, S. 44. Leipzig: Georg Thieme 1936. — [37] Rothberger: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VII/1, S. 562. Berlin: Springer 1926. — [38] Chiardi: Fol. cardiol. (Milano) **2**, 3 (1941). — [38] Fenn: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VIII/1, S. 157. Berlin: Springer 1925. — [40] Blix: Skand. Arch. Physiol. (D.) **4**, 399 (1923). — [41] Bohnenkamp: Lehrbuch der speziellen pathologischen Physiologie, II. Aufl., S. 126. Jena: Gustav Fischer 1937. — Pflügers Arch. **196**, 279 (1922). — [42] Wöhlisch u. Clamann: Pflügers Arch. **237**, 590 (1936). — [43] Frey, J.: Arch. Kreisl.forsch. **7**, 329 (1940). — [44] Nylin, Sällström u. Ågren: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch., 12. Tagg **1939**, 369. — [45] Mateeff: Klin. Wschr. **1936 I**, 421. — [46] Anthony: Funktionsprüfung der Atmung, S. 115. Leipzig: Johann Ambrosius Barth 1937. — [47] Zamboni: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **15**, 398 (1940). — [48] Delius u. Reindell: Z. klin. Med. **143**, 29 (1943). — [49] Frey, E.: Arch. exper. Path. (D.) **105**, 343 (1925). — [50] Hayashi: J. Biophysics (Jap.) **2**, 61 (1927). — [51] Barry, Chauchard, Chauchard et Chauchard: C. r. Soc. Biol. **132**, 216 (1939). — [52] Rothberger: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VII/1, S. 548. Berlin: Springer 1926. — [53] Kanda: Arch. exper. Path. (D.) **190**, 417 (1938). — [54] Cohn and Macledo: Amer. Heart J. **17**, 305 (1939). — [55] Trendelenburg: Arch. Anat. u. Physiol. (Leipz.) **1903**. — [56] Verzár: Theorie der Muskelkontraktion. Basel: Schwabe 1943. — [57] Frey, E.: Pflügers Arch. **184**, 156 (1920). — Ges. Bef. ges. Naturw. **1920**, Nr 3, 47. — Dtsch. med. Wschr. **1922 I**, 857. — Arch. exper. Path. (D.) **98**, 21 (1923); **191**, 621 (1939). — [58] Riesser: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VIII/1, S. 237. Berlin: Springer 1925.

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik München
(Direktor: Prof. Dr. G. v. Bergmann).

Wirkung des Prostigmins auf die Durchblutung des Magens.

Von

Gustav Schimert jr.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Dezember 1947.)

Über die Physiologie und Pharmakologie der Magendurchblutung ist im Gegensatz zu unseren Kenntnissen über die motorische und sekretorische Funktion des Magens infolge bisheriger methodischer Schwierigkeiten nur wenig bekannt. Die Untersuchungen der letzten Jahre haben immer mehr bestätigt, daß die Erkrankungen und Veränderungen der Magengefäße im Sinne der von G. v. Bergmann angenommenen neurogen-spasmogenen Ulkustheorie eine wesentliche Rolle bei der Entstehung von Geschwüren spielen. Diese Auffassung wird mehrfach auch von pathologischer Seite gestützt. Nach der Feststellung Virchows, daß sklerotische oder embolische Gefäßverschlüsse am Magen zu typischen Ulzera führen, hat sich vor allem der Pathologe Hauser (Erlangen) mit dem Problem auseinandergesetzt und die Auffassung der neurogen-spasmogenen Ulkusentstehung restlos aus seinen Befunden anerkannt.

Auch die experimentelle Erzeugung von Geschwüren durch verschiedene Eingriffe am Gefäßsystem und am vegetativen System des Magens beweisen die Bedeutung des Gefäßverhaltens. Es sind z. B. durch Hinterlappenhormon, Adrenalin, Histamin usw. Ulzera erzeugt worden (Penner und Bernheim, Nedzel, Parrot, Berg). Auch durch Pilokarpin konnte Nakashima als Folge von Ischämie durch Muskelspasmen Geschwüre beobachten. Eigene Untersuchungen zeigten, daß die ungünstige Wirkung des Nikotins bei Ulkuskranken auf eine starke Drosselung der Magenarterien zurückgeführt werden muß. Andererseits beruhen therapeutische Effekte mit einzelnen Mitteln auf einer Besserung der Durchblutung. Tangari fand nach längerer Behandlung mit Sexualhormonen eine Hyperämie der Magenschleimhaut.

Diese Befunde sind der stärkste Beweis dafür, daß zwischen Ulkuspathogenese und Trophik des Gewebes ein sicherer Zusammenhang besteht. In gleicher Richtung weisen die Erfahrungen von Cushing, Balo, Veil und Sturm, daß Erkrankungen der vegetativen Zentren zur Ulkusentstehung führen können. Auf diesem Wege wird uns auch

die Beziehung zwischen Ulcuskrankheit und seelischer Emotion verständlich, seit wir Zusammenhänge zwischen seelischer Situation und Hormonspiegel und damit auch dem Funktionszustand der Gefäße erkannt haben. Vorgänge, auf die besonders v. Bergmann in seinen Betrachtungen über die psychophysischen Zusammenhänge immer wieder hingewiesen hat. Diese hier angedeuteten Beziehungen waren der Antrieb für uns, die bisher kaum untersuchte Funktion der Magengefäße zum Gegenstand experimenteller Untersuchungen zu machen.

Zunächst wurden im Rahmen von Experimenten über die Bedeutung des Vagus für die Durchblutung des Magens verschiedene Vagomimetika untersucht, von denen hier über die Wirkung des *Prostigmins* berichtet werden soll. Im Gegensatz zu den anderen die Cholinesterase hemmenden Stoffe beeinflußt Prostigmin die normale Herzaktion und den Blutdruck in therapeutischen Dosen nur in geringem Grade (Stedmann, Straub und Scholz, Ammon und Zipf). Über die Wirkung des Prostigmins auf den Magen ist im Gegensatz zu zahlreichen Untersuchungsergebnissen am Darm nur wenig bekannt. Curtis und Hamilton fanden nach Prostigmingaben Herabsetzung der normalen Magenmotilität, ein bemerkenswerter Befund, der eigentlich im Gegensatz zu unseren Vorstellungen über den Vagustonus und seine Wirkung auf den Magen steht. War dagegen durch vorangegangene Atropinisierung die Motilität des Magens erniedrigt, führte Prostigmin entgegengesetzt zu einer Zunahme der Peristaltik. Man darf deshalb dem Prostigmin und damit eigentlich auch dem Vagus eine regulative Wirkung auf die Peristaltik zuschreiben, in dem gesteigerte Peristaltik gehemmt, herabgesetzte Peristaltik gesteigert werden kann. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Straub, Viaud, Schild und Leo ber Untersuchungen am Dünndarm, an dem 1—10γ/kg die gestörte Peristaltik wiederherstellten, während größere Dosen zum Stillstand im spastischen Zustand führten. Über die Wirkung des Prostigmins auf die Sekretionsverhältnisse des Magens ist wenig bekannt. Einzelne Versuche ergaben Zunahme der Sekretion bei abnehmender Azidität (Myerson, Rinkel und Damesheк, Säker). Diese Befunde bedürfen jedoch noch einer systematischen Nachprüfung am Magengesunden und -kranken.

Vor kurzem veröffentlichte Wagner eine Arbeit über die günstige Wirkung cholinergischer Pharmaka auf das Ulkus des Magens, die er auf eine Tonisierung und Hyperämisierung des Magens zurückführt. Bei 80% seiner Ulkuskranken besserten sich die Beschwerden durch Prostigmintherapie. Die Heilerfolge sind auch röntgenologisch nachgewiesen worden. Wir haben es uns deshalb zur Aufgabe gestellt, die Wirkung des Prostigmins auf die Magendurchblutung im Experiment zu prüfen.

Methodik.

Ähnlich wie bei früheren Versuchen (G. Schimert jr.) wurde an Hunden in Chloralosenarkose die Durchblutung einer Magenarterie (meist der Arteria gastrica sinistra), der Vena portae, der Arteria femoralis oder Vena cava inferior stromabwärts von der Leber mit der Reinschen Stromuhr gemessen. Daneben wurde der Blutdruck blutig in einem Ast der Arteria femoralis und in einzelnen Fällen auch im rechten Vorhof durch eine Kanüle in der Vena jugularis aufgezeichnet. Alle Tiere atmeten bei den Versuchen spontan. Die Versuche wurden an insgesamt 10 Hunden durchgeführt, jeweils wurden Dosen von 0,02—2,5 mg je Ganztier intravenös injiziert.

Ergebnisse.

Bei kleinen Dosen (Abb. 1) kommt es zu einer sehr deutlichen Steigerung der Magendurchblutung, die etwa 1 Min. nach der Injektion einsetzt. Gleichzeitig sinkt der Blutdruck bei diesen Dosen um einen geringen Betrag von etwa 15 bis 20 mm, in anderen Fällen fehlte diese Blutdrucksenkung. In dem gleichen Zeitpunkt nimmt auch die Durchblutung der Vena portae, also der venöse Abstrom etwas zu. Die Durchblutung der Arteria femoralis, d. h. der Peripherie bleibt zunächst noch unverändert, um nach der 4. Min. starke Schwankungen zu zeigen,

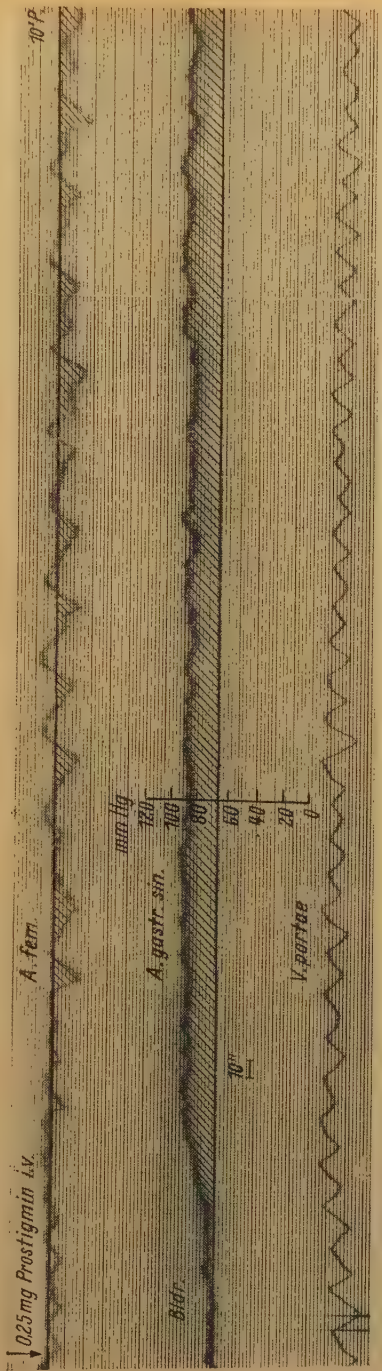


Abb. 1. Hund in Chloralosenarkose. Registriert: Durchblutung der A. femoralis, A. gastrica sin., Vena portae, Blutdruck in der A. femoralis sin. Wirkung von 0,25 mg Prostigmin intravenös.

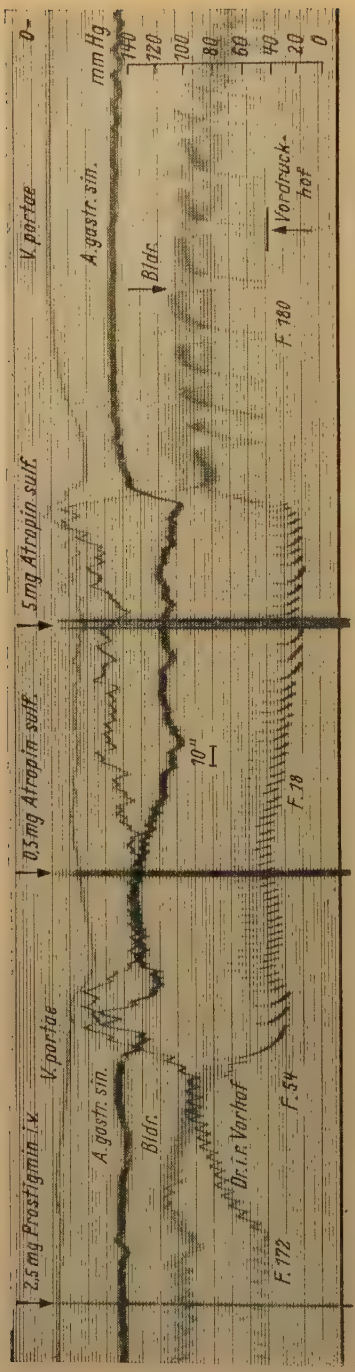


Abb. 2. Hund in Chloralosenarkose. Registriert: Durchblutung der V. portae, A. gastr. sin. Blutdruck in der A. femoralis sin. Druck im rechten Vorhof. Einwirkung von 2,5 mg Prostigmin intravenös.

die dann in eine deutliche Abnahme der Durchblutung übergehen. Vereinzelt war auch eine geringe Zunahme der Femoralisdurchblutung zu verzeichnen. Das Verhalten der peripheren Gefäße dürfte von der augenblicklichen Reaktionslage abhängen. Die gesteigerte Durchblutung des Magens, die etwa 20% beträgt, hält in diesem Versuch ungefähr 20 Min. an und senkt sich dann allmählich wieder auf den Ausgangswert. Bei Wiederholung der gleichen Dosis Prostigmin nach abgeklungener Wirkung, d. h. nach etwa 30 Min. wird manchmal ein geringer Blutdruckanstieg von 20—25 mm Hg beobachtet, der etwa 2—3 Min. andauert. Das sonstige Bild der Wirkung ist unverändert, die Steigerung der Magendurchblutung hat dieselbe Intensität und Dauer wie im ersten Versuch. Werden größere Dosen gegeben, etwa 15 bis 30 γ/kg Körpergewicht, so kann es neben Steigerungen der Magendurchblutung auch zur Verminderung derselben kommen. Die Verminderung der Magendurchblutung läuft aber mit einer deutlichen Blutdrucksenkung von 20 bis 30 mm Hg und einer Frequenzverlangsamung parallel. Man kann aus diesem Befund schließen, daß bei diesen Dosen eine allgemeine Einschränkung des Kreislaufes unter zunehmendem Vaguseinfluß erfolgt. Damit wäre die Senkung der Magendurchblutung zum Teil eine Folge des verminderten Blutangebotes.

Bei noch größeren Dosen 50—100 γ/kg Körpergewicht kann

gelegentlich auch eine ausgesprochene Drosselung der Durchblutung festgestellt werden. In Abb. 2 führen 2,5 mg Prostigmin bei einem Hund von 21 kg Gewicht zu einer erheblichen Senkung der arteriellen Magendurchblutung, die schon vor dem einsetzenden Blutdruckabfall gleichzeitig mit der Abnahme des portalen Abstromes beginnt. Aus diesem Verhalten gewinnt man den Eindruck einer wenigstens zum Teil blutdruckunabhängigen Drosselung. Später sinken Blutdruck und Frequenz ebenfalls enorm ab, so daß es fast zum Kreislaufstillstand kommt. Die nach 4 Min. gegebene Injektion von $^1/_2$ mg Atropin ist völlig wirkungslos. Erst die nach 2 weiteren Minuten verabreichten 5 mg Atropin führen zu einer Aufhebung der Prostigminwirkung, indem Magendurchblutung, portaler Abstrom, Blutdruck und Frequenz wieder auf den Ausgangswert zurückkehren. Nur der während der Bradykardie und Blutdrucksenkung hoch angestiegene Vorhofdruck kehrt nicht gleich zu seinem Ausgangswert zurück. Hierbei ist zu bemerken, daß kleine Dosen Prostigmin niemals eine Veränderung des Vorhofdruckes verursachen. Bei diesen großen Dosen ist am Magen wie auch am Dünndarm ein mit kurzer Peristaltiksteigerung beginnender spastischer Stillstand zu beobachten. Ein Befund, der den schon erwähnten Beobachtungen Straubs und seiner Mitarbeiter entspricht.

Wir können aus diesen Ergebnissen mit gewisser Vorsicht schon bedeutsame Schlüsse ziehen. Eine endgültige Stellungnahme kann nur nach eingehender Prüfung der Sekretionsverhältnisse und des Peristaltikablaufes erfolgen. Wenn der funktionellen Durchblutungsstörung des Magens, wie wir annehmen, bei der Entstehung der Ulcera ventriculi eine Bedeutung zukommt, so muß dem Prostigmin infolge seiner langdauernden durchblutungssteigernden Wirkung ein günstiger Effekt zugesprochen werden. Die günstigen therapeutischen Erfolge Wagners gewinnen damit also auch eine experimentelle Unterstützung, zum mindesten in bezug auf seine Annahme, daß Prostigmin eine Hyperämie der Magenschleimhaut erzeugt. Daß die Hyperämie der Magenschleimhaut sich bei der Heilung der Ulzera bestens bewährt, beweisen auch entsprechend der nachdrücklich schon lange betonten Vorstellung G. v. Bergmanns die Ergebnisse von Schwiegk, daß z. B. durch Kataplasmierung vom Hautsegment aus die Durchblutung des Magens gesteigert werden kann.

Die Anwendung eines Vagomimetikums als Heilmittel gegen das Magengeschwür mutet bei den heute noch vorherrschenden Anschauungen über das Verhalten des Magens und der davon abgeleiteten Grundsätze der Ulkustherapie eigenartig an und dürfte nicht unwidersprochen bleiben, besonders dann, wenn man die immer wieder betonte vagotonische Einstellung des Ulkusträgers als gegeben

betrachtet. Grundsätzlich stehen die meisten Autoren auf dem Standpunkt, daß sekretorische und motorische Ruhigstellung des Magens durch Dämpfung des Vagus (Atropin) eine unerläßliche Forderung der Ulkustherapie ist. Die Prostigmintherapie würde im Gegensatz zu dieser Forderung den Einfluß des Parasympathikus, also des Fördernerven des Magens, steigern. Es werden aber in letzter Zeit endlich immer mehr Stimmen laut, die von der einseitigen Auffassung rein vagotonischer bzw. rein sympathikotonischer Zustände abrücken, gegen die sich v. Bergmann von Anfang an (1913) in seinem leidenschaftlichen Kampf gegen die Irrlehre der „Vagotonie" von Eppinger gewandt hat. Wir dürfen nur noch von einer Störung oder Dysharmonie der vegetativen Steuerungen sprechen, die bei ein und demselben Kranken zu Ausschlägen nach beiden Richtungen führen kann. Es steht außer Zweifel, daß vielfach die Erregung beider Systeme gleichzeitig beobachtet wird. So ist der Durchfall des Hyperthyreotikers, der sonst die Zeichen gesteigerten Sympathikotonus trägt, als ein vagotonisches Symptom zu deuten.

v. Bergmann hat schon 1913 sehr im Gegensatz zu anderen Autoren nachgewiesen, daß die Ulkusträger sich häufig aus den Reihen der leichten Hyperthyreotiker rekrutieren. Diese Individuen tragen alle die Stigmata einer Gefäßlabilität mit Neigung zu Gefäßspasmen und Stasen, eine Beobachtung, die die angioneuritische gefäßspastische sympathikotonische Entstehung der Ulzera zumindest für einen Teil der Kranken wahrscheinlich macht.

Sehen wir für viele, nicht für alle Ulzera die Ulkusentstehung und das Problem der vegetativen Störung als eine Grundlage von diesem Gesichtswinkel aus an, so kann dem Prostigmin zumindest für einen Teil der Kranken infolge seiner hyperämisierenden Wirkung auf die Magenschleimhaut eine günstige Wirkung zugesprochen werden.

Zusammenfassung.

1. Es wird die Bedeutung der Durchblutungsverhältnisse des Magens für die Ulkusentstehung besprochen.

2. Die unter Prostigmineinwirkung mit der Reinschen Stromuhr untersuchte Magendurchblutung zeigt bei Dosen von 1—15 γ/kg Körpergewicht eine lang anhaltende eindeutige Steigerung. Größere Dosen 50—100 γ/kg führen im Rahmen einer allgemeinen Einschränkung des Kreislaufes zu einer Herabsetzung der Magendurchblutung.

3. Die klinische Beobachtung über die günstige Wirkung des Prostigmins bei Ulcus ventriculi wird damit durch den Nachweis der Durchblutungssteigerung der Magengefäße auch experimentell unterbaut.

Literatur.

Ammon u. Zipf: Zbl. inn. Med. **1942**, 7, 114, 129. — Balo: Dtsch. med. Wschr. **1941 I**, 479. — Berg: Amer. J. digest. Dis. a. Nutrit. **7**, 78 (1940). — Bergmann, v.: Handbuch der inneren Medizin, 3. Aufl. — Funktionelle Pathologie, 2. Aufl. Berlin 1936. — Curtis and Hamilton: Ohio J. Sci. **40**, 63 (1940). — Hauser: Zit. nach v. Bergmann. — Hochrein: Münch. med. Wschr. **1941 I**, 328. — Metz, Hill Lackey, Wghry, Small and Patterson: Amer. J. digest. Dis. a. Nutrit. **7**, 27 (1940). — Myerson, Rinkel and Dameshek: New Engld. J. Med. **22**, 1005 (1936). — Nakashima: Z. exper. Med. **47**, 5 (1925). — Nedzel: Arch. physic. Ther. (Am.) **20**, 683, 708 (1939). — Parrot: C. r. Acad. Sci., Par. **212**, 1054 (1941). — Penner u. Bornheim: Z. exper. Med. **70**, 453 (1939). — Säker: Z. Nervenhk. **146**, 138 (1938). — Schimert jr.: Klin. Wschr. **1944**, 164. — Schwiegk: Z. exper. Med. **1935**. — Stedmann: Zit. nach Straub u. Scholz. — Straub u. Scholz: Arch. exper. Path. (D.) **192**, 131 (1936). — Straub, Viaud, Schild u. Leo: Arch. exper. Path. (D.) **169**, 1, 9, 18, 25 (1932). — Tangari: Arch. Veccelo **2/3**, 694, 708 (1940). — Veil u. Sturm: Pathologie des Stammhirns. Jena 1942. — Virchow, R.: Zit. nach v. Bergmann. — Wagner: Wien. med. Wschr. **1943**, 571.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn.

Zum Mechanismus der organotropen Neosalvarsanwirkung.

Von

Fritz Heim.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Januar 1948.)

Die herrschende Auffassung (Ehrlich und Bertheim[1], Voegtlin und Mitarbeiter[2], Rosenthal[3], Cohen und Mitarbeiter[4]) von der Wirkungsweise der Arsenobenzole (Salvarsan, Neosalvarsan, Myosalvarsan u. a. m.) nimmt deren oxydative Umwandlung in entsprechende Arsinoxyde im Tierkörper an. Dafür spricht auch die Tatsache, daß die Salvarsanoxyde in vitro wesentlich stärker auf Trypanosomen und Spirochäten wirken als das Salvarsan- bzw. Neosalvarsanmolekül selbst. Außerdem glaubt Rosenthal[3] das Salvarsanoxyd nach Neosalvarsaninjektion in der Leber und Niere von Ratten direkt nachgewiesen zu haben. Da ein Teil des Neosalvarsans im Harn als Aminooxyphenylarsinsäure auftritt, ist die intermediäre Oxydation des Neosalvarsans zu Salvarsanoxyd und dessen weitere Oxydation zur Arsinsäure nicht unwahrscheinlich. Auch die längere Latenzzeit, die die Arsenobenzole gegenüber den gleichartigen Arsinoxyden aufweisen, kann als die Zeit gedeutet werden, die zur intermediären Umwandlung des Arsenobenzols in das wirksame Oxyd im Organismus benötigt wird. Das Salvarsanoxyd besitzt gegenüber dem Salvarsan nicht nur eine stärkere therapeutische Wirkung, sondern auch eine entsprechend größere Giftigkeit für den menschlichen und tierischen Organismus. Es soll nach Rosenthal, Sanford und Probey[5] die zunehmende Giftigkeit, die Salvarsanlösungen beim Stehen an der Luft zeigen, parallel gehen mit der Bildung von Salvarsanoxyd in der Lösung.

Doch scheint die Frage, ob in vitro Salvarsane durch den molekularen Sauerstoff der Luft zu den entsprechenden Oxyden oxydiert werden, noch nicht entschieden zu sein. Im Gegensatz zu Ehrlich und Bertheim, die die Oxydation der Arsenogruppe des Salvarsans durch den Sauerstoff der Luft für erwiesen halten, vertritt Maschmann[6] den Standpunkt, daß von dem Sauerstoff der Luft primär nicht die relativ stabile Arsenogruppe der Salvarsane oxydiert wird, sondern die sehr sauerstoffbegierigen Oxy-aminogruppen des Moleküls. Eine sekundäre Arsinoxydbildung hält er nach Alkalisieren von Salvarsanlösungen für möglich. R. L. Mayer[7] nimmt ebenfalls an, daß die höhere Wirksamkeit und Giftigkeit der der Oxydation durch den Sauerstoff der Luft ausgesetzten Salvarsanlösungen nur zu einem geringen Teil auf der Arsinoxydbildung beruhe und im wesentlichen in Übereinstimmung mit Reiner und Leonhard[8] auf die Bildung eines Chinonimin, zum Teil auch eines Chinoniminarsinoxyds zurückzuführen sei.

Zur Erklärung des spezielleren Mechanismus der parasitotropen Wirkung der Arsenobenzole entwickelten Voegtlin und Dyer[9] und Voegtlin und Leonhard[10] und neuerdings Cohen und Mitarbeiter[4] die Vorstellung, daß Arsenobenzole im Tierkörper in Arsinoxyde umgewandelt werden und diese mit den Sulfhydrilkörpern des Parasitenprotoplasmas eine Bindung eingehen, die diese wichtigen funktionellen Aufgaben entzieht.

Der gleiche Vorgang, den man der parasitotropen Wirkung der Arsenobenzole zugrunde legt, könnte auch zur Erklärung der organotropen toxischen Wirkung der Salvarsane herangezogen werden, denn die Bedeutung, die den Sulfhydrilkörpern für die Lebensfähigkeit der Trypanosomen oder Spirochäten zugeschrieben wird, dürften sie auch für die Aufrechterhaltung der normalen Funktion der tierischen Körperzellen haben. Wir glauben schließlich, daß die Bildung von Thioarseniten im Tierkörper nicht nur für das Verständnis der therapeutischen und toxischen Wirkung, sondern ebenso auch für die Erklärung der Entgiftung des Neosalvarsans von Bedeutung ist.

Wenn aus dem Neosalvarsan unter der Einwirkung von molekularem Luftsauerstoff in vitro Salvarsanoxyd entsteht und dieses mit dem im Organismus sich bildenden Spaltprodukt des Neosalvarsans identisch ist, dann können Untersuchungen über die Beeinflussung dieses Oxydationsvorganges einen gewissen Einblick gewähren in den Mechanismus der organotropen Wirkung des Neosalvarsans. Als erstes wurde von uns der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Geschwindigkeit der Oxydarion des Neosalvarsans untersucht. Wir haben dann versucht festzustellen, ob das Neosalvarsan mit irgendwelchen tierischen Gewebsbestandteilen eine Bindung eingeht, und inwieweit durch diese Bindung die Oxydation des Neosalvarsans zu Salvarsanoxyd beeinflußt wird. Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß man den eigentlichen Mechanismus sowohl der parasitotropen als auch der organotropen Wirkung organischer Arsenverbindungen in einer chemischen Verbindung mit bestimmten funktionell wichtigen Gewebsbestandteilen vermutet und insbesondere an eine Blockierung der Sulfhydrilkörper gedacht hat. Es wurde deshalb der Einfluß der Sulfhydrilkörper auf den Ablauf der Neosalvarsanoxydation studiert, insbesondere auch bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration, da nach Cohen[4] die Reaktion zwischen Neosalvarsan und den Sulfhydrilkörpern vom p_H des Milieus stark beeinflußt zu sein scheint.

In einem zweiten Teil der Arbeit haben wir festzustellen versucht, welche Funktion des tierischen Gewebes durch Neosalvarsan geschädigt wird. Das Neosalvarsan scheint ein Gift zu sein, das in den Körperzellen unabhängig von deren spezifischem Bau und Funktion eine elementare Zellfunktion zu schädigen vermag.

Man wird den Angriffspunkt in erster Linie an bestimmten den Zellstoffwechsel regulierenden Systemen suchen, zumal Szent-Györgyi[11] und Singer[12] nachgewiesen haben, daß Arsenite und Arsenobenzole wasserstoffübertragende

Fermentvorgänge hemmen. ROSKIN und ROMANOWA[13] beobachteten, daß mit der Leukobase des Methylenblau behandelte Trypanosomenausstriche normalerweise blau gefärbt sind, während nach Vorbehandlung mit Neosalvarsan die Blaufärbung, d. h. die Dehydrierung der Leukobase, ausbleibt. Die Verfasser nehmen die Schädigung einer Oxydoreduktase der Trypanosomen durch das Neosalvarsan an. Nach OELKERS[14] wird durch Neosalvarsan die Kathepsinwirkung gehemmt. OELKERS und VINCKE[15] beobachteten in vitro eine Abnahme des Sauerstoffverbrauchs von Leberbrei nach Zusatz von 2,5 mg-% des anorganischen Arseniks um 32%. Diese neueren Beobachtungen deuten alle auf eine fermentschädigende Wirkung arsenhaltiger Verbindungen hin, speziell auf eine Hemmung fermentativ gesteuerter Oxydationsabläufe.

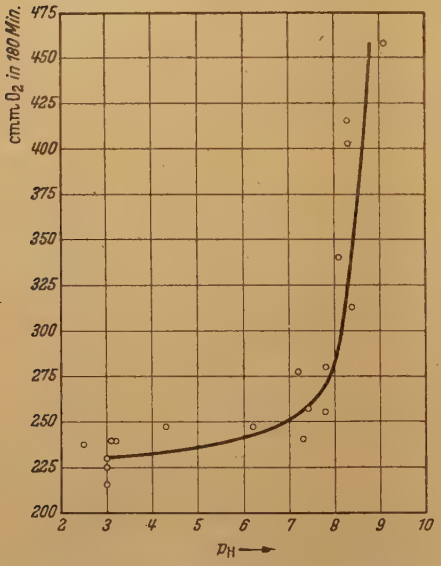


Abb. 1. Die Abhängigkeit der O_2-Aufnahme einer m/275-Neosalvarsan-m/5 Boratpufferlösung vom p_H der Lösung.

Versuche. Unter den Bedingungen, die für die Geschwindigkeit der Oxydation des Neosalvarsans von Bedeutung sein können, haben wir als erstes den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration untersucht. Denn wenn auch das p_H des Blutes und der Gewebsflüssigkeit eine hohe Konstanz aufweisen, so gilt das nicht für die in einzelnen Gewebszellen, noch spezieller für die an einzelnen Bestandteilen der Zellen gefundenen p_H-Werte, die auf Grund von mit Farbstoffindikatoren durchgeführten Messungen innerhalb eines Bereichs von $p_H = 5{,}0—8{,}0$ variieren können (SPECK[27]). Zu unseren Untersuchungen benutzten wir einen 0,2 mol. Boratpuffer, dessen p_H durch Zugabe von n/10 HCl bzw. n/10 NaOH variiert wurde. Das p_H wurde jedesmal elektrometrisch bestimmt. Die Versuche wurden in der WARBURG-Apparatur bei 30° C durchgeführt und zwar wurde der Sauerstoffverbrauch von 5,5 cm³ einer m/275-Neosalvarsanboratpufferlösung innerhalb einer Zeit von 3 Stunden bestimmt.

In Abb. 1 sind die Versuchsergebnisse graphisch dargestellt. Auf der Abszisse befinden sich die gemessenen p_H-Werte und auf der Ordinate die Sauerstoffverbrauchswerte nach 180 Min. Das Ausmaß und die Geschwindigkeit, mit der das Neosalvarsan oxydiert wird, ist, wie aus der Abbildung hervorgeht, in hohem Maße von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig. Im alkalischen Bereich jenseits von $p_H = 7{,}4$ wird die Oxydation mit zunehmender Alkaleszenz sehr

beschleunigt. Der Grund hierfür kann zum Teil in der vom p_H der Lösung abhängigen Stabilität der Neosalvarsanlösungen liegen. Denn sie zeigen bereits bei neutraler Reaktion eine nach einer gewissen Zeit beginnende und nach der sauren Seite hin zunehmenden Trübung und schließlich Flockung, während im alkalischen Bereich sich Neosalvarsan vollkommen und dauerhaft löst. Da bei der Unstabilität des Neosalvarsans im neutralen und sauren p_H-Bereich mit der Zunahme der Teilchengröße eine Abnahme der Kontaktmöglichkeiten mit den im Lösungsmittel physikalisch gelösten O_2-Molekülen einhergeht, so ist im sauren und schwach alkalischen Milieu aus rein physikalischen Gründen eine geringere und im stärker alkalischen Bereich eine höhere Sauerstoffaufnahme zu erwarten. Unter Zugrundelegung der Annahme, daß eine Oxydation des Neosalvarsans an der Arsenogruppe des Moleküls erfolgt und es dabei unter Aufnahme von einem Mol Sauerstoff in zwei Mole Salvarsanoxyd übergeht, ergibt sich aus den in Abb. 1 dargestellten O_2-Verbrauchsmessungen, daß bei einem p_H von 3,0 46%, bei $p_H = 7{,}4$ 51% und bei $p_H = 9{,}1$ 91% der vorgelegten Neosalvarsanmenge innerhalb der Versuchszeit von 3 Stunden in Salvarsanoxyd übergeführt worden sind. In dem physiologischen p_H-Bereich von 7,2—7,4 liegt somit das Reaktionsgleichgewicht — das nach 180 Min. allerdings noch nicht vollständig erreicht ist — bei etwa 50%, d. h. etwa die Hälfte der ursprünglichen Neosalvarsanmenge wird bei $p_H = 7{,}2$—7,4 in Salvarsanoxyd übergeführt.

Im Blut und in den Gewebszellen kann die Gleichgewichtskonstante der Reaktion: Neosalvarsan + $O_2 \rightleftharpoons$ Salvarsanoxyd eine andere Größenordnung haben, da 1. die Reaktion nicht zwischen molekularem Luftsauerstoff und Neosalvarsan stattfindet, 2. wahrscheinlich Fermente als Katalysatoren an dieser Reaktion beteiligt sind und 3. die Löslichkeitsbedingungen für das Neosalvarsan im Gewebe andere sein können als in einer einfachen Boratpufferlösung. Trotzdem wird man bei einer Verschiebung des p_H des Gewebes nach der alkalischen Seite mit einer wesentlichen Beschleunigung der Bildung von Salvarsanoxyd zu rechnen haben.

Um die Möglichkeit auszuschließen, daß der von einer Neosalvarsanlösung aufgenommene Sauerstoff teilweise zur Oxydation der aus formaldehydsulfoxylsaurem Natrium bestehenden Seitenkette verbraucht wird, haben wir den O_2-Verbrauch einer Boratpufferlösung von m/275-formaldehydsulfoxylsaurem Natrium innerhalb eines p_H-Bereichs von 3,0—9,1 untersucht. Da eine derartige Lösung keinen Sauerstoff aufnimmt, ist eine Oxydation des Neosalvarsanmoleküls an dieser substituierten Seitenkette unwahrscheinlich.

Wie bereits erwähnt ist zur Erklärung der parasitotropen und organotropen Wirkung des Neosalvarsans die Möglichkeit des Zustandekommens einer chemischen Reaktion des Neosalvarsans bzw. seines Oxydationsprodukts des Salvarsanoxyds mit den Sulfhydrilkörpern

des Protozoenprotoplasmas bzw. der Blutflüssigkeit und des Gewebes herangezogen worden. Diese Verbindung der Salvarsane mit den Sulfhydrilkörpern, die man als Thioarsenite bezeichnet, wird, wie COHEN und Mitarbeiter[4] nachgewiesen haben, durch Alkalisierung der Lösung leicht wieder gespalten, während sie sich beim Einleiten von Kohlensäure wieder vereinigt. Das p_H des Milieus scheint somit für das Zustandekommen dieser biologisch wichtigen Verbindung von großer Bedeutung zu sein. Wir haben deshalb die Reaktion des Neosalvarsans mit molekularem Sauerstoff, die, wie wir annehmen, zur Bildung von Salvarsanoxyd führt, ohne und in Gegenwart von Cystein bei verschiedenem p_H verfolgt. Unsere zwischen dem ausschlaggebenden p_H-Bereich von 7,3—9,1 gemachten Beobachtungen sind in Abb. 2 kurvenmäßig zur Darstellung gebracht worden.

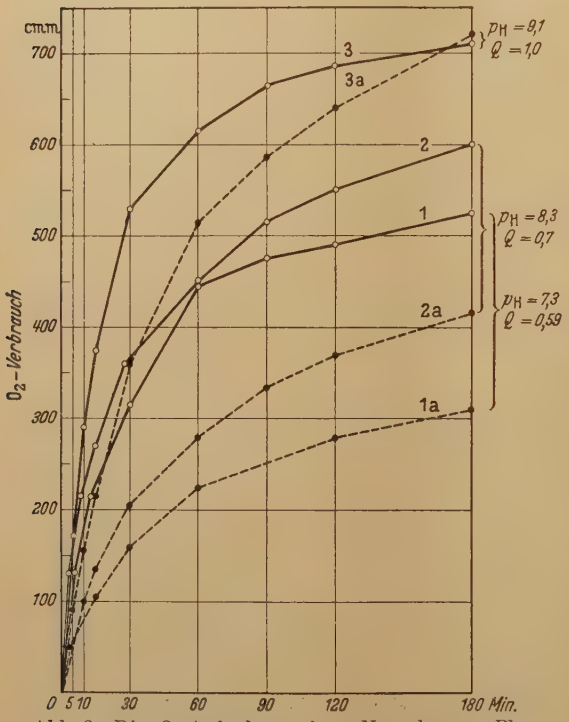


Abb. 2. Die O_2-Aufnahme einer Neosalvarsan-Phosphatpufferlösung ohne und in Gegenwart von Cystein in Abhängigkeit vom p_H der Lösung.
Kurven 1, 2, 3 = Summe des O_2-Verbrauchs einer m/275-Neosalvarsan-Phosphatpufferlösung und einer 4 m/275-Cysteinhydrochlorid-Phosphatpufferlösung bei p_H = 7,3, 8,3 und 9,1.
Kurven 1a, 2a, 3a = O_2-Verbrauch einer m/275-Neosalvarsan-4 m/275-Cysteinhydrochlorid-Phosphatpufferlösung bei p_H = 7,3, 8,3 und 9,1.

Bei einem p_H von 7,3, 8,3 und 9,1 wurde die O -Aufnahme einer m 275-Neosalvarsanlösung (Ansatz I), einer 4m/275-Cysteinhydrochloridlösung (Ansatz II) und einer m 275-Neosalvarsan 4m 275-Cysteinhydrochloridlösung (Ansatz III) über 3 Stunden hin gemessen.

Wenn in der Neosalvarsan-Cysteinlösung (Ansatz III) Neosalvarsan und Cystein unabhängig voneinander durch den Sauerstoff der Luft oxydiert werden, so muß der Sauerstoffverbrauch in Ansatz III der Summe des O_2-Verbrauchs von Ansatz I + II entsprechen. Es laufen also in Ansatz III folgende Reaktionen nebeneinander ab.

$$\text{I.}\quad \begin{matrix} R-As \\ \| \\ R'-As \end{matrix} + O_2 \rightarrow \begin{matrix} R-As=O \\ | \\ R'-As=O \end{matrix} \qquad 4\,R-SH + O_2 \rightarrow 2\,R-S-S-R + 2\,H_2O$$

Reagieren jedoch je 2 Moleküle des Salvarsanoxyds mit 4 Molekülen Cystein unter Bildung von Thioarsenit nach folgender Gleichung

$$\text{II.}\quad \begin{matrix} R-As \\ \| \\ R'-As \end{matrix} + O_2 \rightarrow \begin{matrix} R-As=O \\ | \\ R'-As=O \end{matrix} + \begin{matrix} H-S-R \\ H-S-R \\ H-S-R \\ H-S-R \end{matrix} \rightarrow \begin{matrix} R-As \begin{matrix} -S-R \\ -S-R \end{matrix} \\ R'-As \begin{matrix} -S-R \\ -S-R \end{matrix} \end{matrix} + 2\,H_2O$$

so beträgt der Sauerstoffverbrauch des Ansatz III nur die Hälfte der Summe von Ansatz I + II. Wie wir aus den Kurven 1 und 1a der Abb. 2 ersehen, ist tatsächlich bei einem p_H von 7,3 die O_2-Aufnahme in Ansatz III nur etwa halb so groß wie der Sauerstoffverbrauch in Ansatz I + II. Nach der ersten Versuchsstunde finden wir den Quotient aus dem Verhältnis des Sauerstoffverbrauchs von Ansatz I + II zu dem von Ansatz III mit 0,51. Er steigt dann bis zum Ende der dritten Versuchsstunde auf 0.59 an. Das bedeutet, daß sich bei einem p_H von 7,3 nach 1 Stunde alles und nach 3 Stunden $^4/_5$ des gebildeten Salvarsanoxyds unter Austritt von H_2O mit dem Cystein zu einem Thioarsenit nach Gleichung II verbunden haben. Vergleichen wir dagegen Kurve 3 und 3a miteinander, so stellen wir fest, daß bei einem p_H von 9,1 der Quotient aus dem Sauerstoffverbrauch des Ansatzes I + II zu Ansatz III 10 Min. nach Beginn des Versuchs noch 0,54 beträgt, daß man aber bereits nach 30 Min. einen Quotient von 0,67, nach 60 Min. von 0,8, nach 120 Min. von 0,93 und nach 180 Min. von 1,02 findet. Auch bei einem p_H von 9,1 scheint sich primär das Salvarsanoxyd mit dem Cystein zum Thioarsenit zu verbinden, doch kommt im stärker alkalischen Milieu unter weiterer O_2-Aufnahme diese Verbindung nicht mehr zustande bzw. die Thioverbindung wird in dem die Hydrolyse begünstigenden stärker alkalischen Milieu wieder gespalten, so daß nach 180 Min. Versuchsdauer in Ansatz III die gleichen O_2-Mengen verbraucht sind wie in Ansatz I + II, das heißt in Ansatz III auch die gleichen Reaktionsprodukte in gleicher Menge vorliegen dürften wie in Ansatz I + II, nämlich Salvarsanoxyd und Cystin. Der durch die Kurven 2 und 2a der Abb. 2 zur Darstellung gebrachte Versuch steht in jeder Hinsicht in der Mitte zwischen Versuch 1 und 3. Das p_H dieses Versuchs betrug 8,3. Der Quotient steigt von 0,46 10 Min., auf 0,56 30 Min. nach Versuchsbeginn. Nach 60 Min. beträgt er 0,62, nach 120 Min. 0,68 und nach 180 Min. 0,7. Auch bei einem p_H von 8,3 verbindet sich anfangs noch quantitativ Salvarsanoxyd mit Cystein zum Thioarsenit nach Gleichung II. Doch finden sich nach 180 Min. nur noch 60% Thioarsenit, während der Rest als Salvarsanoxyd und Cystin vorliegen. Der Grund für die Tatsache, daß im stärkeren alkalischen p_H-Bereich die Thioarsenitbildung ausbleibt, ist vielleicht der gleiche, wie für die Beobachtung, daß Neosalvarsan im alkalischen Bereich wesentlich rascher oxydiert wird, als bei neutraler bzw. saurer Reaktion. *Die Affinität des Neosalvarsanmoleküls zum Sauerstoff ist im alkalischen Milieu größer.* Es wird deshalb nicht nur schneller oxydiert, sondern es verbleibt im oxydierten Zustand auch in Anwesenheit des reduzierend wirkenden Cysteins. Es bestätigen somit diese Befunde die mehr allgemeinere Beobachtung Cohens, daß die Bildung von Thioarseniten aus Salvarsanoxyd und Sulfhydrilen bei Abnahme der Alkaleszenz der Lösung begünstigt und durch Alkalisierung der Lösung gehemmt wird.

In diesem Zusammenhang seien Beobachtungen von Kritschewsky und Brussin[16] mitgeteilt, die festgestellt haben, daß saure Salvarsane für Mäuse weniger giftig sind als alkalische, daß die ersteren aber in Haut und Unterhautgewebe zu Nekrosenbildung führen und gegen Infektion mit Trypanosom. equiperd. einen wesentlich längeren Schutz gewährten als die alkalischen. Wir möchten annehmen, daß alkalilösliche Salvarsane deswegen toxischer sind, weil aus ihnen

rascher die giftigen Oxyde entstehen, während die sauren Salvarsane von den SH-Körpern des Gewebes gebunden werden und aus dieser Bindung erheblich langsamer sich freie Oxyde bilden werden. Auf diesen Bindungsvorgang ist auch ihre längere Wirksamkeit zurückzuführen. Wenn die sauren Salvarsane im Gegensatz zu den alkalischen zu Nekrosenbildung führen, so deshalb, weil sie durch eine starke Inanspruchnahme der Sulfhydrilkörper dieses Gewebes eine lokale Schädigung hervorrufen. Diese kann geradezu als ein Entgiftungsvorgang angesehen werden, der den Organismus vor universellerem Schaden bewahrt.

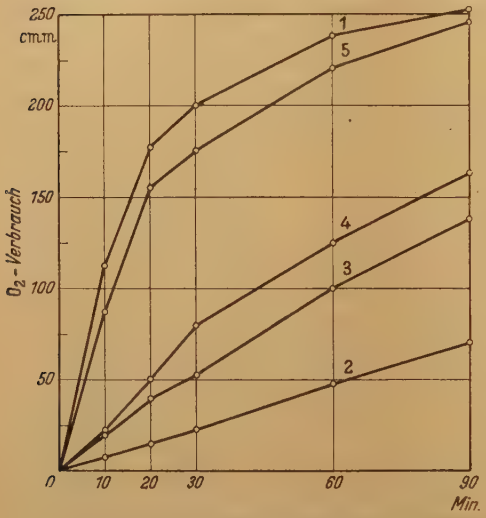


Abb. 3. Der Einfluß von menschlichem Serum in verschiedener Verdünnung auf die Oxydationsgeschwindigkeit von Neosalvarsan. Manometrische O_2-Verbrauchsbestimmung in der WARBURG-Apparatur. Temperatur 30° C. p_H der Lösung = 7,3.
Kurve 1: O_2-Verbrauch von 5,5 cm³ m/275-Neosalvarsan-m/215-Phosphatpufferlösung.
Kurve 2: wie Kurve 1 + Serum, Verdünnung 1:2.
Kurve 3: wie Kurve 1 + Serum, Verdünnung 1:4.
Kurve 4: wie Kurve 1 + Serum, Verdünnung 1:5.
Kurve 5: wie Kurve 1 + Serum, Verdünnung 1:10.

Nachdem wir die Besonderheiten der Reaktion des Neosalvarsans mit den biologisch wichtigen SH-Körpern am Beispiel des Cystein kennengelernt haben, soll weiter untersucht werden, ob Neosalvarsan insbesondere im physiologischen p_H-Bereich mit Bestandteilen des Blutserums bzw. mit bestimmten Gewebselementen eine Verbindung eingeht und inwieweit diese die Geschwindigkeit der Oxydation von Neosalvarsan zu beeinflussen vermag. Um dies festzustellen, haben wir zu Neosalvarsanlösungen menschliches Serum bzw. kleine Mengen von frischen Organauszügen zugesetzt und den zeitlichen Ablauf der Oxydation des Neosalvarsans mit dem einer reinen Neosalvarsanlösung verglichen. Die Versuche wurden wiederum in der WARBURG-Apparatur bei einer Temperatur von 35° C durchgeführt. Im Ansatzstück der Kölbchen befand sich zur Absorption eventuell entstehender Kohlensäure 0,25 cm³ 7% Kalilauge. Zur Herstellung der Organauszüge wurden die frischen Organe von Mäusen oder Meerschweinchen zerschnitten, mit Quarzsand zerrieben, 15 Min. mit der 5fachen Menge eines m/15-Phosphatpuffers vom $p_H = 7{,}2$ extrahiert und Sand und gröbere Organbestandteile durch Zentrifugieren vom Extrakt getrennt. Diese Extrakte enthalten demnach in homogener Suspension neben den gelösten sämtliche kolloidalen Gewebsbestandteile.

Bei der Bedeutung, die dem Serum als Transportorgan und den Serumproteinen als zur adsorptiven oder echten chemischen Bindung befähigten Körpern für die Arzneimittelwirkung zukommt, haben wir als erstes die Oxydation des Neosalvarsans in Gegenwart von menschlichem Serum in verschiedenen hohen Verdünnungen untersucht. In Abb. 3 ist ein Versuch dargestellt, bei dem der Sauerstoffverbrauch einer m/275-Neosalvarsanlösung ohne und mit Zusatz von menschlichem Serum in verschiedenen Verdünnungen über 90 Min. hin bestimmt wurde.

Die Hemmungswirkung des Serums auf die Oxydation des Neosalvarsans nimmt mit steigender Verdünnung ab. Sie ist bei einer Verdünnung 1:10 sehr gering und wird bei einer Verdünnung 1:30 vollständig vermißt. Ein quantitatives Maß für die Hemmungswirkung des Serums in den verschiedenen Verdünnungen erhält man aus der Errechnung der während des Versuchs erreichten höchsten Sauerstoffverbrauchsdifferenz zwischen Kurve 1 und den Kurven 2—5. Sie beträgt zwischen Kurve 1 und 2 im Maximum 190 mm³ O_2. Da zur totalen Umwandlung von 5,5 cm³ m/275-Neosalvarsan in Salvarsanoxyd bei 35° C und 760 mm Hg 506 mm³ O_2 benötigt werden, so werden in Gegenwart von Serum in einer Verdünnung 1:2 maximal 38% des vorgelegten Neosalvarsans durch das Serum vor der Oxydation geschützt. Bei einer Serumverdünnung 1:4 sind es maximal 29%, bei einer Verdünnung 1:5 25% und bei einer Verdünnung 1:10 nur 5%.

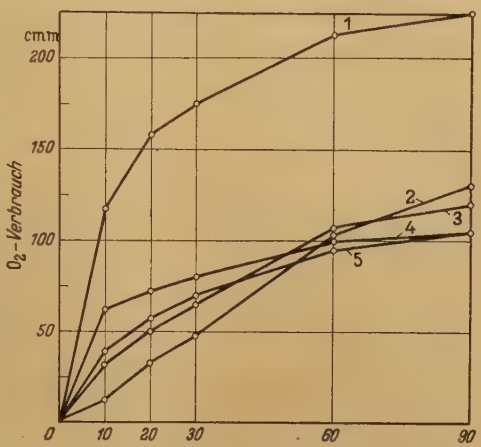


Abb. 4. Der Einfluß von Organextrakten in einer Verdünnung 1:50 auf die Oxydationsgeschwindigkeit von Neosalvarsan. Manometrische O_2-Verbrauchsbestimmung in der WARBURG-Apparatur. Temperatur 30° C. pH der Lösungen = 7,2.
Kurve 1: O_2-Verbrauch von 5,5 cm³ m/275-Neosalvarsan-m/15-Phosphatpufferlösung.
Kurve 2: wie Kurve 1 + Meerscheinchenleberextrakt.
Kurve 3: wie Kurve 1 + Meerschweinchennierenextrakt.
Kurve 4: wie Kurve 1 + Mäusehautextrakt.
Kurve 5: wie Kurve 1 + Extrakt aus quergestreifter Muskulatur von Meerschweinchen.

In Abb. 4 ist der zeitliche Verlauf der Oxydation einer m/275-Neosalvarsanlösung ohne und in Gegenwart verschiedener Organauszüge graphisch zur Darstellung gebracht worden. Kurve 1 der Abbildung gibt wiederum den Sauerstoffverbrauch einer reinen m/275-Neosalvarsanlösung bei einem p_H des Phosphatpuffers von 7,2 wieder. Wie aus den Kurven 2—5 der gleichen Abbildung hervorgeht, wirken Auszüge aus Leber, Niere, Haut und quergestreifter Muskulatur hemmend auf die O_2-Aufnahme des Neosalvarsans. Berechnet man

abermals den Höchstwert der Sauerstoffverbrauchsdifferenz zwischen Kurve 1 und den Kurven 2—5, so läßt sich in der gleichen Weise wie im vorausgegangenen Versuch die Menge Neosalvarsan prozentual berechnen, die durch eine Bindung an das Gewebe der Oxydation jedenfalls vorübergehend entzogen wird. Die von dem Meerschweinchenleberextrakt gebundene Neosalvarsanmenge beträgt maximal 25% der Ausgangsmenge, beim Nierenextrakt 22%, beim Haut- und Muskelextrakt 24%. Die Neosalvarsanmengen, die von den einzelnen Gewebsarten bei gleicher Verdünnung maximal gebunden werden können, sind demnach fast gleich.

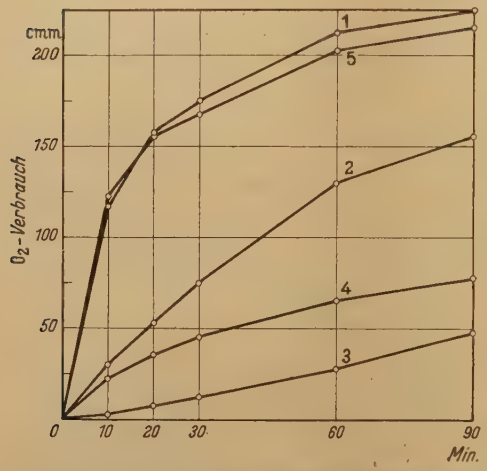


Abb. 5. Die die Neosalvarsanoxydation hemmende Wirkung auf 56° C erwärmter und hitzedenaturierter Leberextrakte. Manometrische O_2-Verbrauchsbestimmung in der WARBURG-Apparatur. Temperatur 30° C.
pH der Lösungen = 7,2.
Kurve 1: O_2-Verbrauch von 5,5 cm³ m/275-Neosalvarsan-m/15-Phosphatpufferlösung.
Kurve 2: wie Kurve 1 + Leberextrakt, Verdünnung 1:50.
Kurve 3: wie Kurve 1 + 15 Min. auf 56° erwärmter Leberextrakt. Verdünnung 1:50.
Kurve 4: wie Kurve 1 + 60 Min. auf 56° erwärmter Leberextrakt, Verdünnung 1:50.
Kurve 5: wie Kurve 1 + 3 Min. auf 100° erhitzter Leberextrakt, Verdünnung 1:50.

Erwärmt man die Gewebsextrakte vorübergehend auf 56° C, so nehmen ihre hemmenden Eigenschaften meist an Stärke zu.

So sei in Abb. 5 als Beispiel die Wirkung eines Leberextraktes angeführt, von dem ein Teil nicht, ein anderer Teil 15 Min., ein weiterer 60 Min. auf 56° C erwärmt und schließlich ein restlicher Teil 3 Min. auf 100° erhitzt wurde. Wie aus der Abbildung hervorgeht, konnte die Hemmungswirkung durch Erwärmen auf 56° noch erheblich gesteigert werden, während die Hitzedenaturierung zur Aufhebung der die Neosalvarsanoxydation hemmenden Fähigkeit führte. Errechnet man in der bereits angeführten Weise aus der maximalen O_2-Verbrauchsdifferenz den prozentualen Anteil der Neosalvarsanmenge, die mit dem Lebergewebe eine die Oxydation verhindernde Verbindung einging, so beträgt sie für den nicht erwärmten Extrakt 21%, für den 15 Min. auf 56° erwärmten 37%, den 60 Min. auf 56° erwärmten 30% und für den auf 100° erhitzten Teil des Leberextraktes 2%, d. h. praktisch null.

Unterzieht man die von uns verwendeten Organauszüge einer 24stündigen Dialyse gegen die mehrmals ausgewechselte 20fache Menge eines Phosphatpuffers vom gleichen p_H, so zeigen die Organextrakte nach der Dialyse noch die gleichen hemmenden Eigenschaften wie die nichtdialysierten Extrakte. Diese Beobachtung spricht sehr dafür, daß das Neosalvarsan mit den Gewebskolloiden und nicht mit irgendwelchen

durch Dialyse entfernbaren nichtkolloidalen Bestandteilen des Gewebes eine die Oxydation verhindernde Bindung eingeht. Eine weitere Bestätigung findet diese Annahme in der Tatsache, daß die Gewebsauszüge nach der zur Koagulation der Gewebsproteine führenden Hitzedenaturierung die Fähigkeit verloren haben, durch Eingehen einer Bindung die Neosalvarsanoxydation zu verhindern.

Bei der Hitzedenaturierung kommt es zu tiefgreifenden Veränderungen des strukturellen Gefüges der Eiweißkörper. Durch Verlust ihrer Löslichkeit sind sie zu chemischen Reaktionen, die wir als die Voraussetzung für das Wirksamwerden der Oxydationshemmung ansehen, wohl kaum mehr befähigt. Einen weiteren Beweis für die Annahme, daß das Neosalvarsanmolekül mit den Serum- und Gewebsproteinen eine entweder allgemeinere adsorptive oder auch echte chemische Verbindung eingeht, die es vor einer raschen Oxydation schützt, sehen wir darin, daß sich die Hemmungswirkung der Gewebsextrakte durch Erwärmen steigern läßt. Denn nach den Befunden von SEELICH[17] wird bei der stufenweise erfolgenden Wärmedenaturierung von Proteinen als primäre Phase eine Hydratationssteigerung beobachtet, als deren Ursache eine Aufspaltung von Bindungen im Eiweißmolekül angenommen wird. Es kommt dabei zur Entstehung zahlreicher freier reaktionsfähiger Gruppen verschiedenen chemischen Charakters, unter anderem entstehen auch durch hydrolytische Spaltung der zwischen benachbarten Polypeptidketten des Moleküls bestehenden Disulfidbindungen neue reaktionsfähige SH- und SOH-Gruppen. Es sei in diesem Zusammenhang auf eine Arbeit von TIHARA[18] hingewiesen, der eine größere Anzahl chemischer Substanzen auf ihre das Neosalvarsan entgiftende Wirkung untersuchte. Er fand, daß der Auflösung von Neosalvarsan in auf 60° erwärmtem Serum oder in einer 1—2% Glutathionlösung die stärkste entgiftende Wirkung zukommt.

Es wurden bereits einleitend Befunde erwähnt, die vermuten lassen, daß arsenhaltige Verbindungen in der Weise in den Zellstoffwechsel eingreifen, daß durch sie für die Zellatmung wichtige Fermente bzw. Fermentaktivatoren lockiert werden. Es kann sich neben anderem dabei auch um eine Blockierung freier SH-Gruppen des Gewebes handeln. Wenn diesen blockierten Gruppen eine größere Bedeutung für die Atmungsvorgänge der Zelle zuzuschreiben ist, so muß diese Tatsache in einer Störung der oxydativen Umsetzungen, d. h. in einer Änderung des normalen Sauerstoffverbrauchs des Gewebes zum Ausdruck kommen. Wir haben deshalb Tiere mit Neosalvarsan behandelt und nach Tötung der Tiere den Sauerstoffverbrauch einzelner Organe bestimmt und ihn mit der O_2-Verbrauchsgröße der gleichen Organe unbehandelter Tiere verglichen. Es wurde die Atmungsgröße der Leber, der Milz und der Haut untersucht.

Die Leber wird klinisch bei Neosalvarsankuren neben der Haut am häufigsten geschädigt und durch Untersuchungen von RICHTERS[19] und ROSENTHAL[3] wurde nachgewiesen, daß nach Neosalvarsanzufuhr die Leber Arsen bzw. Arsinoxyde bis zu 50 mg-% enthält. Auch in der Milz findet man nach den Angaben von v. JANSCO[20] nach Neosalvarsanzufuhr reichlich Arsen wie überhaupt von v. JANSCO angenommen wird, daß das retikuloendotheliale System Arsenobenzole speichert und somit entgiftet. Denn nach Milzextirpation ist die protozoentötende Wirkung

von Arsenobenzolen besser als an normalen Tieren trotz Fehlens der im retikuloendothelialen System mobilisierten Abwehrkräfte. Auch nach Angaben von Zolog und Comsia[21], Reiner, Clifford und Chao[22] wird durch Blockierung des retikuloendothelialen Systems z. B. mit Tusche eine Steigerung der chemotherapeutischen Wirksamkeit von Arsenobenzolen erzielt. Unter den durch Neosalvarsan hervorgerufenen Organschädigungen steht die Haut der Häufigkeit nach an erster Stelle. Nach Richters[19] ist allerdings der Arsengehalt der Haut nach Neosalvarsanzufuhr anfänglich weit geringer als der anderer Organe. Er nimmt erst im Laufe der Zeit mehr und mehr zu. Die menschliche Haut ist das sulfhydrilreichste Organ. Deshalb dürfte gerade die Tatsache, daß die Arsenobenzole mit den SH-Körpern der Haut Thioverbindungen einzugehen vermögen, für die entgiftende Funktion der Haut einerseits, andererseits aber auch für eine bevorzugte Schädigung dieses Organs von Bedeutung sein.

Methodik. Ein Teil der Versuche wurde in den Wintermonaten an Temporarien durchgeführt. Die Tiere wurden gewogen, sie erhielten die Neosalvarsanlösung in den Bauchlymphsack injiziert. Die Sauerstoffverbrauchsmessung wurde in der Warburg-Apparatur vorgenommen. Die Kölbchen enthielten im Hauptstück 5 cm^3 Tyrodelösung mit dem darin suspendierten zerkleinerten Organ und im Ansatzstück 0,25 cm^3 7% Kalilauge zur Absorption der Kohlensäure. Die Versuche an den Froschlebern wurden bei 30° C, die Warmblüterversuche bei 37,5° C in reiner Sauerstoffatmosphäre vorgenommen.

Die Versuche an weißen Mäusen im Gewicht von 17—25 g wurden in folgender Weise durchgeführt. Nach Bestimmung des Körpergewichts erhielten die Tiere 0,2 mg Neosalvarsan je Gramm Körpergewicht subkutan. Traten bei den Tieren innerhalb 48 Stunden nach der Injektion Symptome einer Vergiftung auf wie Freßunlust, Sträuben bzw. Struppigwerden des Haarkleids, Bewegungslosigkeit auch nach Schmerzreizen, so wurden die Tiere getötet und die Bestimmung der Atemgröße von Leber, Milz und Haut vorgenommen. Diejenigen Tiere aber, die auf 0,2 mg Neosalvarsan hin nach 48 Stunden noch keine Erscheinungen einer Salvarsanvergiftung zeigten, erhielten zu diesem Zeitpunkt weitere 0,2 mg Neosalvarsan, und wenn auch diese Menge vertragen wurde, nach weiteren 48 Stunden noch einmal die gleiche Menge je Gramm Körpergewicht. Die Empfindlichkeit der weißen Mäuse gegenüber Neosalvarsan war also von Tier zu Tier sehr verschieden. Während die einen 0,6 mg insgesamt vertrugen, gingen die anderen schon innerhalb der ersten 10 Stunden nach 0,2 mg Neosalvarsan je Gramm Körpergewicht zugrunde.

Ebenfalls große Unterschiede in der Empfindlichkeit weißer Mäuse Neosalvarsan gegenüber beobachtete Jamamato[23]. Er teilte 540 weiße Mäuse in Gruppen zu je 10 Tieren ein und gab allen 540 Tieren die gleiche Neosalvarsanmenge. Die Mortalität betrug bei dieser Dosis im Mittel 48%. Doch während in einzelnen Gruppen alle 10 Tiere an dieser Dosis starben, ging in anderen Gruppen unter den 10 Tieren nur eines zugrunde. Auch Morrell und Chapman[24] stellten an einem großen Tiermaterial fest, daß die letale Mindestdosis von Neosalvarsan für Ratten um 211% schwankt.

Versuche. Die Ergebnisse der Versuche an Fröschen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Für Mäuse sind in der Tabelle 2 die 60 Min.-O_2-Verbrauchsmittelwerte von 12 Einzelversuchen an unbehandelten Tieren wiedergegeben. In der zweiten Reihe finden wir die O_2-Verbrauchsmittelwerte von Leber, Milz und Haut der Tiere, die innerhalb der ersten 15—36 Stunden nach 0,2 mg Neosalvarsan je Gramm Körpergewicht getötet wurden, weil sie bereits zu dieser Zeit die obengenannten

Tabelle 1. *Bestimmung des O_2-Verbrauchs der Leber normaler und mit 0,5 mg Neosalvarsan je Gramm Körpergewicht vorbehandelter Temporarien (Infektion in dem Bauchlymphsack).* WARBURG-*Apparatur. Temperatur 30° C. Reine Sauerstoffatmosphäre. Jedes Kölbchen enthält im Hauptstück in 5,0 cm³ Kaltblütertyrodelösung suspendierten Leberbrei, im Ansatzstück 0,25 cm³ 7% KOH. Die Tyrodelösung enthält 200 mg-% Traubenzucker.*

Zahl der Einzelversuche	Tötung nach Neosalvarsaninjektion	60 Min.-O_2-Verbrauchsmittelwerte je Gramm Leber in mm³	Abnahme in %
10	unbehandelte Kontrolltiere	328	—
5	8 Stunden	262	20
5	24 „	168	50
5	40 „	143	57

Tabelle 2. *Bestimmung des O_2-Verbrauchs von Leber, Milz und Haut normaler und mit Neosalvarsan vorbehandelter weißer Mäuse.* WARBURG-*Apparatur. Temperatur 37,5° C. Reine Sauerstoffatmosphäre. Jedes Kölbchen enthält im Hauptstück in 5,0 cm³ Tyrodelösung suspendierte, zerkleinerte Leber bzw. Milz bzw. Haut, im Ansatzstück 0,25 cm³ 7% KOH. Die Tyrodelösung enthält 200 mg-% Traubenzucker.*

Zahl der Einzelversuche	Neosalvarsan je Gramm Körpergewicht	Zeit der Tötung nach Neosalvarsaninjektion	60 Min.-O_2-Verbrauchsmittelwerte je Gramm Organ in mm³			Prozentuale Abnahme des O_2-Verbrauchs von		
			Leber	Milz	Haut	Leber %	Milz %	Haut %
12	unbehandelte Kontrolltiere		628	716	173	—	—	—
6	0,2 mg	15—36 Stunden	388	266	169	38	63	2
6	3mal 0,2 mg	5—7 Tage	216	270	124	65	62	28

Erscheinungen einer schweren Neosalvarsanvergiftung zeigten. In der dritten Reihe der Tabelle finden sich die 1 Stunden-O_2-Verbrauchsmittelwerte von Tieren, die insgesamt 0,6 mg Neosalvarsan je Gramm Körpergewicht erhalten hatten und 5—7 Tage nach der ersten Neosalvarsaninjektion getötet wurden. Auf Grund der mitgeteilten Versuchsergebnisse läßt sich die Feststellung treffen, daß die Sauerstoffaufnahme der in Tyrode suspendierten zerkleinerten Organe von Tieren, die mit toxischen Neosalvarsandosen behandelt wurden, gegenüber dem O_2-Verbrauch der gleichen Organe unbehandelter Tiere erheblich herabgesetzt ist. Der Grad der O_2-Verbrauchsabnahme scheint von der injizierten Neosalvarsanmenge und zeitlichen Faktoren abhängig zu sein. Da die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs zum Teil mehr als 60% beträgt, so ist anzunehmen, daß sie nicht ohne Rückwirkung auf die Funktion dieser Organe ist. Denn die oxydativen Umsetzungen in der Zelle sind letzten Endes die Grundlagen und Voraussetzungen für jede

weitere Organleistung und eine Senkung auf $^1/_3$ der Norm darf schon als ein Maß angesehen werden, das schwerere funktionelle oder auch organische Schädigungen nach sich ziehen wird.

Wenn wir finden, daß von einer Störung der Atmungsfunktion vor allem die Leber und Milz betroffen sind, die Haut dagegen in weit geringerem Maße, so stehen diese Befunde in guter Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Richters[19], v. Jansco[20], Zolog und Comsia[21], daß gerade die Milz und Leber sehr viel Arsinoxyde speichern. Weiterhin wird von de Asua[25] angenommen, daß das retikuloendotheliale System der Milz und Leber nicht nur Neosalvarsan speichert, sondern auch in stark bakterizide Substanzen umwandelt. Es müßten deshalb nach seiner Meinung Milz und Leber als Organe „in denen diese Umwandlungsprodukte entstehen, auch als erste einer besonderen Gefährdung ausgesetzt sein. Wie bereits erwähnt, beobachtete Richters[19], daß nach Neosalvarsanzufuhr die Haut erst sehr spät größere Arsenmengen aufweist, so daß eine Schädigung der Atmungsfunktion der Haut zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt als in der Milz und Leber zu erwarten sein dürfte.

Bekannt ist die roborierende Wirkung kleiner Arsenikdosen und dem Kliniker ist ebenfalls die Tatsache geläufig, daß während antiluetischer Neosalvarsankuren Patienten nicht selten an Gewicht zunehmen, so daß auch dem Neosalvarsan eine roborisierende Wirkung zukommen dürfte. Es ist auf Grund unserer Befunde wahrscheinlich, daß diese günstige Nebenwirkung des Neosalvarsans auf einer Hemmung der Zellatmung und somit auf einer Senkung des Gesamtstoffwechsels beruht. Bei der großen individuellen Empfindlichkeit dem Salvarsan gegenüber ist es nicht verwunderlich, wenn die gleichen Neosalvarsanmengen bei dem einen die günstige Wirkung einer Stoffwechselherabsetzung zeigen, während sie bei einem anderen Patienten das Atmungssystem der Zelle bereits in einem toxischen Ausmaß beeinflussen. Vielleicht ist die Zunahme der toxischen Salvarsanwirkungen, die in den letzten 5—7 Jahren in Deutschland in zunehmendem Maße beobachtet wurden, in einen ursächlichen Zusammenhang zu bringen mit der mangelhaften Zufuhr tierischen Eiweißes, speziell der im Eiweiß enthaltenen schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin, so daß dem Körper die zur Entgiftung notwendigen Sulfhydrilkörper fehlen. Denn es wurde von Brown und Kolmer[26] beobachtet, daß der Glutathiongehalt von Blut und Milz, doch auch von Leber und Gehirn schon nach einer einmaligen Neosalvarsaninjektion bisweilen sehr stark absinkt.

Versucht man die Ergebnisse unserer Untersuchungen zur Erklärung des Mechanismus der organotropen Neosalvarsanwirkung heranzuziehen, so lassen sich daraus folgende Schlüsse ziehen: Neosalvarsan, das in die Blutbahn gelangt, wird sehr wahrscheinlich quantitativ von den Plasmaproteinen gebunden und so auf dem Transportweg zum Gewebe vor einer vorzeitigen Oxydation geschützt. Gelangt das unverändert Neosalvarsmolekül in das Gewebe, so stehen auch dort genügend Gewebsproteine zur Verfügung, die es durch eine adsorptive oder chemische Bindung vor der sofortigen oxydativen Umwandlung bewahren. Im Gewebe wird sich dann ein Gleichgewicht zwischen gebundenen und freien Neosalvarsanmolekülen einstellen. Die Geschwindigkeit, mit der die freien Neosalvarsanmoleküle zu Salvarsanoxyd oxydiert werden, wird in hohem Maße vom p_H des Gewebes

abhängen, da dieses, wie wir feststellten, für die Löslichkeit des Neosalvarsans und dessen Affinität zum Sauerstoff bestimmend ist. Das aus dem Neosalvarsan gebildete Salvarsanoxyd kann nun mit den freien Sulfhydrilkörpern des Gewebes reagieren unter Bildung von Thioarseniten. Auch diese Reaktion ist, wie wir zeigen konnten, durch p_H-Verschiebungen stark beeinflußbar. Durch die Bindung der Sulfhydrile des Gewebes an das Salvarsanoxyd können sie ihren vielseitigen physiologischen Aufgaben (Redoxystem, Wasserstoffakzeptoren, prostetische Gruppen von Fermenten, Fermentaktivatoren, Entgiftungsfunktion) entzogen werden. Da den Sulfhydrilkörpern eine besonders wichtige Aufgabe bei den Atmungsvorgängen der Zelle zuzufallen scheint, so wird man in Gegenwart von größeren Neosalvarsan- bzw. Salvarsanoxydmengen im Gewebe mit einer Schädigung, speziell mit einer Herabsetzung der Zellatmung zu rechen haben. Wie wir sahen, kann tatsächlich die Gewebsatmung von mit Neosalvarsan vergifteten Tieren um $^2/_3$ gegenüber der Norm herabgesetzt sein. Der Grad dieser Schädigung wird wahrscheinlich vom absoluten und relativen Sulfhydrilkörpergehalt des Organismus und der einzelnen Organe abhängen. Es ergibt sich aus unseren Versuchen, daß wahrscheinlich mehrere der von uns untersuchten Faktoren zusammentreffen müssen, wenn auch mittlere therapeutische Neosalvarsanmengen zu schweren Organschädigungen führen sollen, denn normalerweise scheinen die physikalisch-chemischen und chemischen Verhältnisse im Organismus so zu liegen, daß nach Neosalvarsaninjektionen das Auftreten größerer Mengen giftigen Salvarsanoxyds im Blut und Gewebe verhindert werden kann.

Zusammenfassung.

Es wurde in der WARBURG-Apparatur die Größe und Geschwindigkeit der O_2-Aufnahme einer Neosalvarsan-Boratpufferlösung bestimmt und zwar in Abhängigkeit vom p_H der Lösung. Die Oxydation des Neosalvarsan ist im alkalischen Milieu stark beschleunigt. Zwischen einem $p_H = 3{,}0—7{,}4$ beträgt die O_2-Aufnahme je Mol Neosalvarsan 0,46—0,5 Mol O_2, bei einem p_H von 9,1 fast ein Mol je Mol Neosalvarsan.

Im sauren und schwach alkalischen Milieu verbindet sich Salvarsanoxyd mit Cystein sehr wahrscheinlich zu einem Thioarsenit, während im stärker alkalischen Bereich diese Verbindung nicht zustande kommt bzw. wieder gelöst wird.

Die O_2-Aufnahme einer Neosalvarsan-Phosphatpufferlösung wird durch Zusatz von Serum bzw. Extrakten aus Leber, Niere, quergestreifter Muskulatur und Haut gehemmt. Erwärmen der Organextrakte auf 56° C verstärkt diese Hemmungswirkung. Erhitzen auf 100° C hebt sie auf.

Entfernt man durch Dialyse die nichtkolloidalen Bestandteile aus den Extrakten, so bleibt ihre Fähigkeit, die O_2-Aufnahme des Neosalvarsans zu hemmen, erhalten.

Die Stärke der Hemmungswirkung ist abhängig von der Konzentration des zugesetzten Serums bzw. Organextrakts. Das Neosalvarsanmolekül scheint mit bestimmten Gruppen der Serum- und Gewebsproteine eine adsorptive oder auch echte chemische Bindung einzugehen, durch die die Oxydation des Neosalvarsans verhindert wird.

Es wurde weiterhin der Einfluß des Neosalvarsan auf die Gewebsatmung untersucht und zwar wurde der O_2-Verbrauch von Leber, Milz und Haut mit toxischen Neosalvarsandosen vorbehandelter weißer Mäuse bestimmt und mit dem der gleichen Organe unbehandelter Tiere verglichen. Der O_2-Verbrauch der Leber mit Neosalvarsan vergifteter Tiere ist bis zu 65%, der der Milz bis zu 63% und der der Haut bis zu 28% gegenüber der Norm herabgesetzt.

Literatur.

[1] Ehrlich u. Bertheim: Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 3292 (1907); **43**, 917 (1910); **44**, 1260 (1911); **45**, 756 (1912). — [2] Voegtlin u. Mitarb.: J. Pharmacol. (Am.) **23**, 55 (1924); **25**, 297 (1925); **27**, 467 (1927). — Publ. Health. Rep. **38**, 1882 (1923). — [3] Rosenthal, S. M.: J. Pharmacol. (Am.) **45**, 272 (1932). — [4] Cohen u. Mitarb.: J. chem. Soc. **1931**, 3043, 3236; **1932**, 501, 593. 2505, 2866. — [5] Rosenthal, Sanford and Probey: J. Pharmacol. (Am.) **48**, 286 (1933). — [6] Maschmann: Ber. dtsch. chem. Ges. **57**, 1759 (1924); **59**, 213, 1142, 1148 (1926). [7] Mayer, R. L.: Klin. Wschr. **1926**, 1699. — [8] Reiner and Leonhard: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **27**, 788 (1930); **29**, 946 (1932). — [9] Voegtlin u. Dyer: Publ. Health. Rep. (Am.) **42**, 176, 1045 (1927). — [10] Voegtlin and Leonhard: J. Pharmacol. (Am.) **25**, 297 (1925). — [11] Szent György u. Mitarb.: Z. physiol. Chem. **236**, 1 (1935). — [12] Singer u. Fischl: Z. Hyg. **116**, 133, 241 (1934). [13] Roskin u. Romanowa: Zbl. Bakter. usw. **129**, 35 (1933). — [14] Oelkers: Arch. exper. Path. (D.) **184**, 276 (1937). — [15] Oelkers u. Vinke: Arch. exper. Path. (D.) **182**, 499 (1936). — [16] Kritschewsky u. Brussin: Z. Immunit.forsch. **39**. 197 (1924). — [17] Seelish: Ln Otto, Felix u. Laibach, Chemie und Physiologie des Eiweiß. Dresden-Leipzig 1938. — [18] Tihara: Hifu-to-Hitsunyo (Jap.) **7**, 30 (1939). — [19] Richters: Arch. Tierhk. **62**, 373 (1930). — [20] Jansco: Z. exper. Med. **56**, 135 (1927); **61**, 63 (1928); **65**, 98 (1929). — [21] Zolog et Comsia: C. r. Soc. Biol. **122**, 1135 (1936). — [22] Reiner, Clifford and Chao: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **27**, 791 (1930). — [23] Jamamoto: Jap. J. Derm. a. Ur. **45** (1939). — [24] Morrell and Chapman: J. Pharmacol. (Am.) **48**, 375, 391 (1933). — [25] Asua de, Kuhn et Tornio: C. r. Soc. Biol. **99**, 1511 (1928). — [26] Brown and Kolmer: J. Pharmacol. (Am.) **35**, 417 (1929). — [27] Speck, J.: In Nord-Weidenhagens Ergebnisse der Enzymforschung, Bd. VI, S. 1.

Aus der Psychiatrischen- und Nervenklinik der Universität Freiburg
(Direktor: Prof. Dr. K. Beringer).

Eine flammenphotometrische Methode zur Bestimmung von Natrium, Kalium und Kalzium in biologischen Flüssigkeiten.

Von

Jürgen Belke und August Dierkesmann.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Oktober 1947.)

Die Schwierigkeiten bei der Durchführung der chemischen Bestimmungsmethoden für Mineralien in Körperflüssigkeiten ließen seit langer Zeit den Wunsch nach einer andersartigen, neuen Analysenmöglichkeit laut werden. In der Industrie haben aus ähnlichen Gründen seit geraumer Zeit physikalische Methoden zur Bestimmung von Mineralien an Bedeutung gewonnen (Gerlach). Angewandt wird vor allem die Spektralanalyse, welche bei geringem Zeitaufwand die Durchführung größerer Analysenserien gestattet. Allerdings ist der apparative Aufbau und vor allem die schwierige quantitative Auswertung von Nachteil. So hat diese Untersuchungsmethode in den Kliniken kaum Eingang finden können. Während die Industrie meist mit Hochfrequenzfunken- oder Flammenfunkenversuchsanordnungen arbeitet, verwendet Lundegardh in Schweden für biologische Untersuchungen eine flammenspektroskopische Analyseneinrichtung, in der die verdünnte Analysenflüssigkeit durch Preßluft zerstäubt und nach Mischung mit Azetylengas in einer Flamme verbrannt wird. Das Licht dieser Flamme wird spektrographisch erfaßt. Norinder bearbeitete mit Hilfe dieser Apparatur erstmals medizinisch-klinische Fragestellungen.

Auf dieser Apparatur aufbauend, entwickelten Schuhknecht und Waibel für das Kali-Syndikat in Berlin zur serienmäßigen Durchführung von Kaliumanalysen in Erden eine flammenphotometrische Apparatur, welche in ihrer technischen Ausführung von Rauterberg und Knippenberg wesentlich verbessert wurde. Ausgehend von dieser Apparatur wurde von der Firma Karl Zeiß auf Anregung von Bohnenkamp und Dierkesmann nach Vorversuchen in der Medizinischen Klinik Freiburg (unveröffentlicht) eine neue Analyseneinrichtung zur Bestimmung nicht nur von Kalium (K), sondern auch von Natrium (Na) und Kalzium (Ca) in Körperflüssigkeiten entwickelt. Nachdem zunächst nur Serumanalysen durchgeführt werden konnten, wurden später von Belke durch Einführung eines Korrektionssystems auch Na-, K- und Ca-Analysen von Urinen ermöglicht.

Nach weitgehender Zerstörung der Apparate durch Kriegseinwirkungen konnte nach dem Kriege in der Universitäts-Nervenklinik Freiburg der Neuaufbau der Analyseneinrichtung unter Zuhilfenahme provisorischer Ersatzteile durchgeführt werden. Die methodischen Einzelheiten wurden verändert. Die Brauchbarkeit des Verfahrens zu Massenanalysen in kurzer Zeit mit einer wesentlichen Genauigkeit konnte trotz der beschränkten Hilfsmittel bewiesen werden.

Prinzip der Methode. Die zu analysierende Flüssigkeit wird, wie unten beschrieben passend verdünnt und nach Zerstäuben in der Azetylenpreßluftflamme verdampft. Das dadurch entstehende Mischlicht der Flamme wird nach Passieren von Farbfiltern, welche jeweils das Na-, K- und Ca-Licht möglichst selektiv aus dem Gesamtlicht der Flamme aussondern, mit Hilfe einer Photozelle photometriert, und der Galvanometerausschlag an einer Mattscheibenskala abgelesen. Vor der Analyse werden mittels wäßriger Lösungen bekannter Mineralkonzentrationen Eichkurven aufgenommen, denen die Analysenwerte in mg-% entnommen werden können.

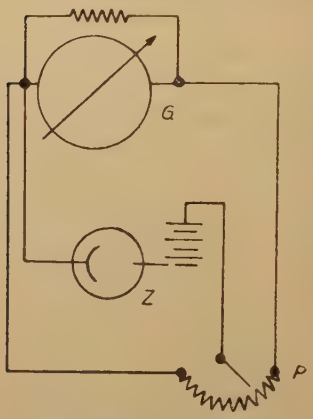


Abb. 1. Schaltung von Photozelle und Galvanometer. *G* Galvanometer; *Z* Photozelle; *P* Potentiometer.

Die Apparatur nach Schubknecht und Waibel in der Versuchsanordnung für Na-, K- und Ca-Bestimmungen besteht aus:

1. *Zerstäuberanlage und Brenner* nach Rauterberg und Knippenberg. In den Boden des Zerstäubergefäßes ist eine Kapillare eingeschmolzen. Durch diese wird mittels Preßluft — die durch eine Düse an das obere Ende der Kapillare herangebracht wird — die zu untersuchende Flüssigkeit emporgesaugt und zerstäubt. Zur Verbesserung der Zerstäubung befindet sich oberhalb der Kapillare eine kleine Glaskugel, gegen welche die zerstäubte Flüssigkeit anprallt. Die Zerteilung der Flüssigkeit wird dadurch verfeinert.

2. Das *Filter-Photozellenaggregat* ist zusammen mit der Zerstäuberanlage auf einem Stativ montiert. Das Licht der Azetylenpreßluftflamme wird von einem Kondensor aufgefangen und nach Passieren einer nach Wahl vorschaltbaren Blende und des der jeweiligen Analyse entsprechenden, eingeschraubten Farbfilters zur Photozelle geleitet. Zur Na- und Ca-Bestimmung wird zur Zeit ein Selensperrschichtelement der SAF, zur K-Analyse eine für rotes K-Licht hochempfindliche Vakuum-Caesium-Zelle der Firma Preßler (Vorspannung = 100 V) verwendet.

3. Dem *Spiegelgalvanometer* (zur vorliegenden Arbeit wurde ein Instrument der Firma Ruhstrat, Göttingen, Nr. 74605, Eigenwiderstand = 2000 Ω, Empfindlichkeit = 10^{-9} A, verwendet, das wie vorstehende Skizze geschaltet war) wird der Photostrom zugeführt, so daß

4. auf einer *mattierten Millimeterskala* mit Hilfe eines Projektionszeigers der jeweilige Ausschlag abgelesen werden kann.

5. Zwei *Zweistufenpräzisionsventile* gewährleisten einen konstanten Azetylen- und Preßluftdruck.

6. Auf einem Brett montiert dienen ein *Preßluftfeinmanometer* mit einem Meßbereich von 0,1—1,0 Atm. und ein *Wassermanometer* für das Azetylengas zur Kontrolle der Arbeitsdrucke.

Die Farbfilter, welche für die Na-, K- und Ca-Analyse benützt werden, haben Durchlässigkeitsbereiche wie aus Abb. 2 ersichtlich.

Während Schuhknecht und Waibel, Rauterberg und Knippenberg nur K-Analysen wäßriger Erdaschenlösungen durchführten, haben wir es mit biologischen Flüssigkeiten zu tun, welche neben verhältnismäßig großen Mengen Na, K und Ca noch andere Mineralien

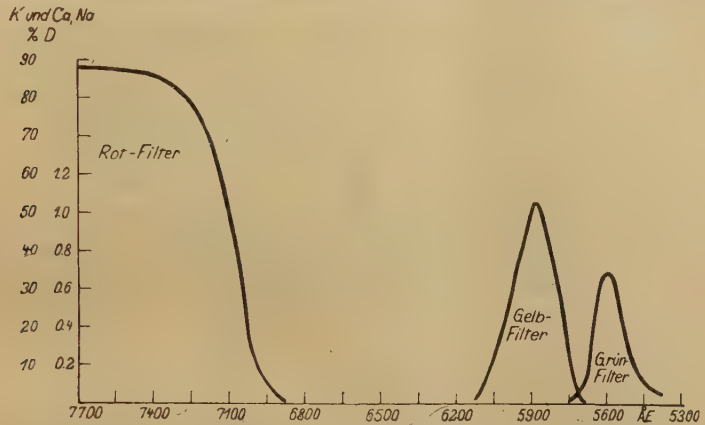


Abb. 2. Durchlässigkeit (D) in % der verwendeten Farbfilter im Bereich von 5300—7700 Å.

und Eiweißkörper enthalten. Hierdurch sind ihre physikalischen Eigenschaften bei der Zerstäubung und Verdampfung in der Flamme andere als die der als Eichlösungen dienenden wäßrigen Lösungen. Früher in der Medizinischen Klinik durchgeführte Versuche haben jedoch gezeigt, daß sich Serum als wohl viskäseste biologische Flüssigkeit von einer Verdünnung 1 : 5 ab in bezug auf seine Zerstäubung und Verdampfung den wäßrigen Vergleichslösungen gleichartig verhält.

Die Abbildung der Durchlässigkeitsbereiche der verwendeten Filter zeigt, daß ihre Selektivität für die im Mischlicht der Flamme stets nebeneinander vorhandenen Na-, K- und Ca-Linien nicht streng ist.

Das Rotfilter mit einem Durchlässigkeitsbereich ab 6900 Å mit einem Maximum bei 7700 Å läßt die K-Linien 7699,9 und 7699,0 fast ungehindert passieren. Die Na-Doppellinie bei 5890 Å stört praktisch nicht. Die breite Ca-Bande reicht nur mit ihren sehr schwachen, langwelligen Ausläufern in den Durchlässigkeitsbereich des Rotfilters hinein, wird also praktisch ebenfalls nicht stören.

Das zur Na-Analyse verwendete, dichte Gelbfilter, Durchlässigkeitsbereich 5700—6100 Å, hat seine höchste Durchlässigkeit im

Bereich der Na-Doppellinie. Während ein wesentlicher Durchtritt von K-Licht nicht zu erwarten ist, wird die Ca-Bande stören können.

Das zur Ca-Analyse benutzte Grünfilter, Durchlässigkeitsbereich von 5400—5750 Å, ist bis zu einem gewissen Grade sowohl für Na- wie für K-Licht (violett) durchgängig. Die Anwesenheit beider Mineralien muß darum bei der Ca-Analyse berücksichtigt werden.

Zur praktischen Erprobung der Filter wurde jedes bei konstant brennender Flamme (0,41 Atm. Preßluft, 70 mm H_2O Azetylen) durch

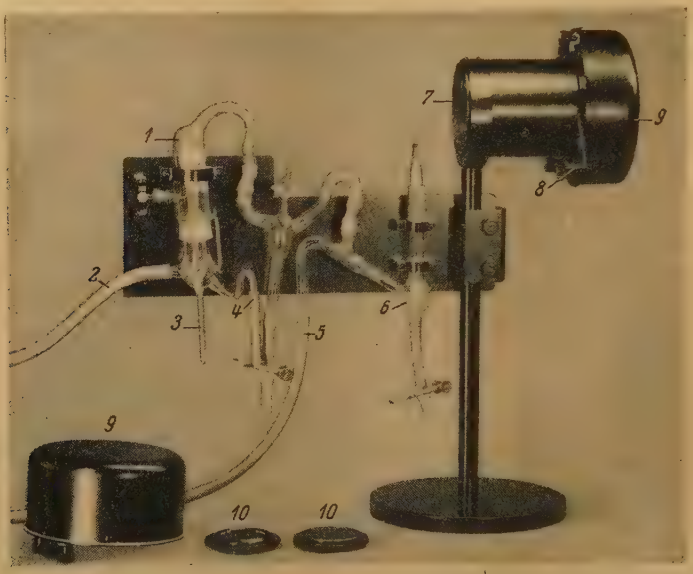


Abb. 3. Ansicht des Flammenphotometers nach Schuhknecht und Waibel in der Versuchsausführung für Na-, K- und Ca-Bestimmungen. *1* Zerstäubergefäß; *2* Preßluftzufuhr; *3* Ansaugkapillare; *4* Ablaufröhrchen; *5* Azetylenzufuhr; *6* Mischkugel mit Brenner; *7* Kondensorlinse; *8* Blende; *9* Photozellen; *10* Filter.

Zerstäuben und Verdampfen jeweils reiner Na-, K- und Ca-Lösungen steigender Konzentration geprüft. Die Konzentrationen entsprachen den später verwendeten Verdünnungsgraden der biologischen Flüssigkeiten. Das Ergebnis ist aus den folgenden Tabellen zu ersehen.

Die Ausschläge des Galvanometers bis zu 3,5 Skalenteilen bei Verdampfen von Lösungen, welche 1,0—70,0 mg-% Na enthalten, sind auf einen geringfügigen Durchtritt von Na-Licht durch das Rotfilter zurückzuführen[1]. Während der Störfaktor des Na-Lichtes in der später gezeigten Weise ausgeglichen wird, kann der geringe Durchtritt von

[1] Zum besseren Verständnis vergegenwärtige man sich, daß Farbfilter die einzelnen Spektralbereiche nicht scharf zu trennen vermögen. Die Durchlässigkeitskurven verlaufen in ihren Ausläufern vielmehr asymptotisch, so daß geringfügige Überschneidungen sich nicht vermeiden lassen.

Tabelle 1 und 2. *Rotfilter in Verbindung mit der für K-Licht hochempfindlichen Vakuum-Caesium-Zelle.*

Die eingewogenen Mengen Na und Ca entsprechen einer Verdünnung der biologischen Flüssigkeiten 1:10, so daß diese 10—700 mg-% Na und 5—60 mg-% Ca enthalten würden. Leerwert = Ausschlag des Galvanometers bei Verdampfen von Aqua dest.

Tabelle 1.

mg-% Na	Skalenteile	mg-% Na	Skalenteile
1,0	6,0	20,0	7,5
5,0	6,5	40,0	8,5
10,0	7,0	70,0	9,5

Tabelle 2.

mg-% Ca	Skalenteile	mg-% Ca	Skalenteile
0,5	6,0	3,0	6,5
1,0	6,0	6,0	7,0

Leerwert = 6 Skalenteile.

Tabelle 3 und 4. *Gelbfilter in Verbindung mit dem SAF-Selensperrschichtelement.*

Die eingewogenen Mengen K und Ca entsprechen der bei Na-Analysen meist angewendeten Verdünnung der biologischen Flüssigkeiten 1:100, Analysenwert der eingewogenen Menge also 5—1000 mg-% K und 10—100 mg-% Ca.

Tabelle 3.

mg-% K	Skalenteile	mg-% K	Skalenteile
0,05	2	1,0	3
0,1	2	2,0	3
0,2	2	3,0	3
0,3	3	5,0	4
0,5	3	10,0	4

Tabelle 4.

mg-% Ca	Skalenteile	mg-% Ca	Skalenteile
0,1	2	0,4	2
0,2	2	0,5	2
0,3	2	1,0	3

Leerwert = 2 Skalenteile.

Ca-Licht durch das Rotfilter, wie er in Tabelle 2 zu erkennen ist, praktisch unberücksichtigt bleiben.

Wir sehen, daß das Gelbfilter innerhalb der physiologisch zu erwartenden Mineralkonzentrationen nur von unerheblichen Mengen K- und Ca-Licht passiert wird. Dies hat seine Ursache in der Selektivität und Dichte des Filters, wodurch das schwache K- und Ca-Licht bei physiologisch vorkommenden Konzentrationen absorbiert wird.

Tabelle 5 und 6. *Grünfilter in Verbindung mit dem SAF-Selensperrschichtelement.*

Die eingewogenen Mengen Na und K entsprechen der meist angewandten Verdünnung biologischer Flüssigkeiten bei der Ca-Bestimmung 1:10. Analysenwert also 10—700 mg-% Na und 10—700 mg-% K.

Tabelle 5.

mg-% Na	Skalenteile	mg-% Na	Skalenteile
1,0	46,5	40,0	77,0
5,0	50,0	60,0	89,0
10,0	56,0	70,0	94,0
20,0	63,0		

Tabelle 6.

mg-% K	Skalenteile	mg-% K	Skalenteile
1,0	45,0	40,0	51,5
5,0	46,0	60,0	54,0
10,0	48,0	70,0	55,0
20,0	49,0		

Leerwert = 45 Skalenteile.

Wie erwartet, wird das Grünfilter sowohl von Na- wie von K-Licht durchsetzt. Der Störeffekt des Na-Lichtes ist bei gleicher Konzentration wesentlich größer als der des K-Lichtes.

Neben den Mängeln, welche die Filter aufweisen, ist noch ein weiterer, sehr wesentlicher Störfaktor bei den flammenphotometrischen Mineralanalysen zu berücksichtigen: Die gegenseitige Anregung der Ionen verschiedener Elemente in der heißen Flamme. Sie kann sich sowohl in einer Verstärkung wie unter Umständen in einer Abschwächung des Emissionseffektes bemerkbar machen. Dieser seit langem bekannte Vorgang ist experimentell nicht zu beeinflussen und bietet die Hauptschwierigkeit in der quantitativen Auswertung der Ablesungen. Da aus Platzmangel in dieser Mitteilung auf die theoretischen Vorstellungsmöglichkeiten der gegenseitigen Anregung der Elemente nicht eingegangen werden kann, sollen nur die uns hier interessierenden, empirisch gewonnenen Tatsachen mitgeteilt werden.

Zur Feststellung der Beeinflussung der Na-Lichtemission durch K- und Ca-Ionen wurden folgende Versuche durchgeführt, welche bei der Prüfung der K- und Ca-Lichtemission entsprechend variiert wurden.

Nach dem Aufnehmen der Na-Eichkurve (Gelbfilter mit Selensperrschichtelement) wurden zu Lösungen jeweils gleicher Na-Konzentration steigende Mengen K hinzugefügt, die sich bei der Verdampfung ergebenden Galvanometerausschläge festgestellt und die Na-Werte in mg-% aus der Eichkurve abgelesen. Die Versuche wurden in gleicher Weise mit Na/Ca- und Na/K/Ca-Lösungen wiederholt. Als Beispiel seien einige Ergebnisse in den folgenden Tabellen mitgeteilt.

Aus der Tabelle 7 ist zu ersehen, daß mit zunehmender K-Konzentration die Galvanometerausschläge und damit die aus der Eichkurve zu entnehmenden Na-Werte steigen. Hierbei ist der durch den jeweiligen K-Gehalt bedingte Mehrausschlag für die verschiedenen Na-Konzentrationen fast gleich groß. Da, wie oben gezeigt, nur unerhebliche Mengen K-Licht das Gelbfilter passieren können, muß eine Steigerung

Tabelle 7. *Einfluß von K-Ionen auf die Na-Lichtemission.*
Skt = Skalenteile, F-% = Fehler-%.

mg-% K	2,0 mg-% Na			3,0 mg-% Na			4,0 mg-% Na		
	Skt	mg-% Na	F-%	Skt	mg-% Na	F-%	Skt	mg-% Na	F-%
0,0	96	199	—0,5	136	298	—0,6	158	395	—1,2
0,1	96	199	—0.5	136	298	—0,6	159	400	0
0,3	96,5	200	0	137	300	0	159	400	0
0,5	97	200	0	138	303	+1,0	160	405	+1,2
1,0	99,5	206	+3,0	140	308	+2,5	161	408	+2,0
2,0	102	213	+6,5	142	313	+4,5	162,5	412	+3,0
4,0	104	217	+8,5	144	320	+6,7	165	420	+5,0
8,0	105,5	220	+10,0	146	325	+8,2	167	430	+7,5

der Na-Lichtemission durch die hinzugefügten K-Ionen angenommen werden. Der bei höheren Konzentrationen auftretende Fehler fällt jedoch bis zu K-Konzentrationen bis 0,5 mg-% (— 50 mg-% Analysenwert bei der für Na-Analysen meist angewandten Verdünnung des biologischen Materials 1:100) nicht ins Gewicht und kann vernachlässigt werden. Diese Feststellung ist darum wichtig, weil in manchen der meist zu untersuchenden biologischen Flüssigkeiten (z. B. Serum, Liquor) selbst unter pathologischen Verhältnissen eine K-Konzentration von 50 mg-% nicht erreicht wird. Für Flüssigkeiten mit höherem K-Gehalt kann der Fehler für den Na-Wert gegebenenfalls in der später gezeigten Weise in Anrechnung gebracht werden.

Tabelle 8. *Einfluß von Ca-Ionen auf die Na-Lichtemission.*
Skt = Skalenteile, F-% = Fehler-%. Die eingewogenen Na- und Ca-Mengen entsprechen wie in Tabelle 7 der Verdünnung biologischer Flüssigkeiten 1: 100.

mg-% Ca	0,5 mg-% Na			3,0 mg-% Na		
	Skt	mg-% Na	F-%	Skt	mg-% Na	F-%
0,0	32	50	0	149	293	—2,3
0,05	32	50	0	150	297	—1
0,10	32	50	0	150	297	—1
0,20	32	50	0	151	300	0
0,40	32	50	0	150	297	—1
0,80	32	50	0	151	300	0
2,00	32	50	0	150	297	—1

Bei der Messung der K-Lichtemission wird das Rotfilter in Verbindung mit der für K-Licht hoch empfindlichen Vakuumphotozelle verwendet. Bei der Prüfung der K-Lichtemission in Gegenwart von Na- und Ca-Ionen stellte sich heraus, daß ähnlich wie das K-Ion auf das Na-, auch das Na- auf das K-Ion einen emissionsverstärkenden Einfluß ausübt. Ein Einfluß des Ca-Ions in den physiologischen Konzentrationen ist weder auf die Na- (Tabelle 8) noch auf die K-Lichtemission mit unserer Apparatur feststellbar.

Die Messung der Ca-Lichtemission schließlich geschieht mittels des Grünfilters in Verbindung mit dem auch bei der Na-Bestimmung verwendeten SAF-Selensperrschichtelement. Aus den Tabellen 5 und 6 ging hervor, daß sowohl K- wie auch Na-Licht das Grünfilter passieren, wobei das Na-Licht ein größeres Durchtrittsvermögen hat als das K-Licht. Da die Ca-Ionen weder auf die Na- noch auf die K-Lichtemission einen mit unserer Apparatur meßbaren Einfluß ausübten, stand zu erwarten, daß umgekehrt die Ca-Lichtemission durch K- oder Na-Beimengungen nicht beeinflußt wurde. Diese Annahme fand ihre experimentelle Bestätigung, wie die folgende Tabelle 9 und die Abb. 4 zeigen.

Aus der Tabelle 9 und der Abb. 4 ist der lineare Anstieg der Ca-Lichtemission bei Verdampfen von Ca-Lösungen steigender Konzentration zu erkennen. Bei den Geraden II, III und IV ist nur der

Tabelle 9. *Durchtritt von Na- und K-Licht durch das Grünfilter.*

Leerwert L (Aqua dest.) = 42			Leerwert L (800 mg-% Na) = 95			Leerwert L (800 mg-% K) = 53			Leerwert L (800 mg-% Na und 800 mg-% K) = 105		
mg-% Ca	Skt	Skt—L	Skt	Skt—L	—L 42	Skt	Skt—L	-L 42	Skt	Skt—L	—L 42
0,5	64	22	116	21	74	76	23	34	127	22	85
1,0	88	46	140	45	98	100	47	58	149	44	107
2,0	134	92	183	88	141	143	90	101	194	89	152
3,0	181	139	231	136	189	192	139	150	241	136	199
4,0	224	182	273	178	231	230	177	188	283	178	241
6,0	318	276	365	270	323	325	272	283	375	270	333

Leerwert bei Verdampfen von Wasser (L = 42 Skt.) vom Galvanometerausschlag abgezogen. Die der Gerade I parallel verlaufende Gerade II ergibt sich bei Zuwägung von 80,0 mg-% K (= in der bei Ca-Bestimmungen meist verwendeten Verdünnung 1:10, Analysenwert also

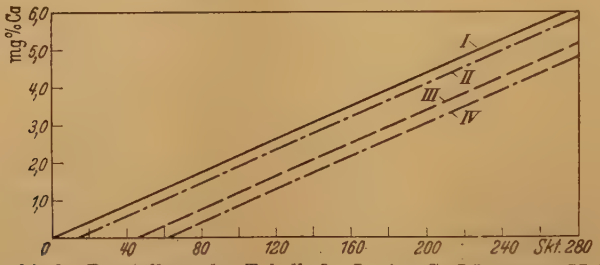


Abb. 4. Graphische Darstellung der Tabelle 9. *I* reine Ca-Lösungen; *II* Ca-Lösungen mit 80,0 mg-% K; *III* Ca-Lösungen mit 80,0 mg-% Na; *IV* Ca-Lösungen mit 80,0 mg-% K und 80,0 mg-% Na. Vom Galvanometerausschlag wurde nur der Leerwert bei Verdampfen von aq. dest. L = 42 abgezogen.

800 mg-%) zu den in ihrer Konzentration ansteigenden Ca-Lösungen. Bei der Geraden III sind an Stelle des K dieselbe Menge Na (80,0 mg-%) zugewogen. Die Gerade IV schließlich ergibt sich bei Zuwägung von jeweils 80,0 mg-% K und 80,0 mg-% Na (= 80,0 mg-% Na/K-Lösungen bei ansteigendem Ca-Gehalt). Sie ist genau die Summe der Geraden II und III. Subtrahiert man den zu jeder Geraden gehörenden Leerwert (= Ausschlag des Galvanometers bei Verdampfen einer Flüssigkeit, welche alle Bestandteile außer des zu analysierenden enthält), so ergibt sich stets wieder die Gerade I, welche die Ca-Eichlinie darstellt.

Vorausgesetzt, daß die Konstanz der äußeren Arbeitsbedingungen gewährleistet ist, müssen bei der flammenphotometrischen Na-, K- und Ca-Analyse also folgende Störfaktoren berücksichtigt werden:

1. Filtermängel. Während das Rotfilter für die in biologischen Flüssigkeiten vorkommenden Konzentrationen für Na-Licht unerhebliche, für Ca-Licht praktisch keine Mängel aufweist, könnte das

Gelbfilter bei extrem hohen Ca-Konzentrationen eine geringe Menge Ca-Licht passieren. Durch das Grünfilter treten außer Ca-Licht mäßige Mengen K- und erhebliche Mengen Na-Licht hindurch.

2. Gegenseitige Beeinflussung der Na- und K-Lichtemission. Schon geringe Na-Beimengungen verursachen eine merkliche Verstärkung der K-Lichtemission. Umgekehrt vermögen K-Konzentrationen von mehr als 0,5 mg-% die Na-Lichtemission in gewissem Umfang zu steigern. Ca-Beimengungen haben auf die Lichtemission von Na und K keinen mit unserer Apparatur meßbaren Einfluß, wie auch die Ca-Lichtemission weder durch K noch Na meßbar gestört wird.

Einen Einfluß anderer in biologischen Flüssigkeiten vorhandener Stoffe auf die Lichtemission von Na, K und Ca haben wir nicht feststellen können. Auf dem früher aufgenommenen Spektrogramm der Flamme bei Verdampfen der verschiedensten biologischen Flüssigkeiten wie Serum, Urin, Pleurapunktate usw. waren auf kontinuierlichem Untergrund nur die Hauptlinien bzw. Banden von Na, K und Ca zu erkennen. Das hat seinen Grund in den verhältnismäßig hohen Verdünnungsgraden, in denen die Flüssigkeiten untersucht werden, so daß andere Elemente in nicht mehr wirksamer Konzentration vorliegen dürften. Auch reicht die Energie der Azetylenpreßluftflamme nicht aus, schwerer anregbare Elemente, wie z. B. Cu und Fe, zur Lichtemission zu bringen.

Auf Grund der oben beschriebenen Feststellungen muß sich die flammenphotometrische Analyse von Na, K und Ca wie folgt aufbauen:

Da die Na-Lichtemission nur von höheren in der Analysenflüssigkeit vorhandenen K-Konzentrationen im Sinne einer Verstärkung beeinflußt wird, ist zunächst die Na-Analyse mit Hilfe reiner Na-Lösungen als Eichlösungen durchzuführen.

Weil die K-Analyse von der Na-Konzentration, jedoch nicht von Ca-Beimengungen abhängig ist, folgt auf die Na-Analyse die K-Bestimmung. Als Eichlösungen müssen K-Lösungen steigender Konzentration hergestellt werden, denen der im ersten Analysengang gefundene Na-Gehalt hinzuzufügen ist. So ist der durch die Na-Ionen hervorgerufene emissionssteigernde Effekt für das K-Licht aufgehoben. Zeigt es sich, daß hohe K-Werte vorhanden sind, so muß eine Korrektion des Na- und gegebenenfalls des K-Wertes nach dem Prinzip der Einschachtelung vorgenommen werden. Man stellt zu diesem Zweck neue Na-Eichlösungen her, denen der gefundene hohe K-Gehalt zugesetzt wird und wiederholt die Na-Analyse. Mit diesem zweiten, korrigierten Na-Wert wird nunmehr noch einmal die K-Bestimmung durchgeführt. Eine weitere Möglichkeit, Störfaktoren durch gegenseitige Anregung der Na- und K-Ionen auszuschalten, besteht im

chemischen Ausfällen des Na, bzw. K aus der Analysenflüssigkeit. Doch ist nach unseren bisherigen Erfahrungen diese Maßnahme nicht notwendig.

Zuletzt wird die Ca-Bestimmung in der Weise vorgenommen, daß zu den reinen Ca-Lösungen steigender Konzentration der jeweils gefundene Na- und K-Gehalt der Analysenflüssigkeit hinzugefügt wird. Als Leerwert wird *der* Galvanometerausschlag von den Eichkurven- und Analysenwerten abgezogen, welchen man beim Verdampfen einer dem Analysengang I und II entsprechenden Na/K-Lösung erhält.

Nach Erläuterung der zum Verständnis der Apparatur notwendigen physikalischen Vorbedingungen soll vor Beschreibung von Vorbereitung und Durchführung der flammenphotometrischen Analyse noch kurz auf die technisch bedingten Fehlermöglichkeiten eingegangen werden.

Sollen vergleichbare und reproduzierbare Mineralanalysen durchgeführt werden, so muß die Apparatur während einer Bestimmung unter den gleichen äußeren Bedingungen arbeiten. Fehlbestimmungen könnten entstehen bei inkonstant brennender Flamme, ungleich arbeitender Ansaug- und Zerstäuberanlage, nicht beachteten Ermüdungserscheinungen der Photozelle, schlechter Isolierung von Apparatur und Leitungen sowie Unstimmigkeiten in den Verdünnungsgraden von Eichlösungen und Analysenflüssigkeit.

1. Das gleichmäßige Brennen der Flamme ist bestimmt durch konstanten Preßluft- und Azetylendruck. Der bestgeeignete Preßluft- und Azetylendruck muß bei jeder Apparatur von neuem empirisch ermittelt werden. Er beträgt für unser Flammenphotometer 0,41 Atm. Preßluft und 70 mm H_2O Azetylen. Druckschwankungen ändern die Temperatur und Form der Flamme und damit die Anregungsbedingungen für die verdampfenden Mineralien. Außerdem ist die in der Zeiteinheit angesaugte und zerstäubte Flüssigkeitsmenge von dem an der Ansaugkapillare vorbeistreichenden Luftstrom abhängig. Die durch Schwankungen der Arbeitsdrucke möglichen Fehler können naturgemäß erheblich sein.

2. Sowohl Sperrschichtphotoelemente wie in geringerem Umfange auch Vakuumphotozellen haben die Eigenschaft, bei längerer Belichtung an Empfindlichkeit zu verlieren, zu ermüden. Dieser Vorgang ist reversibel und in seiner Ausprägung von der Stärke der Belichtung abhängig (Sewig). Bei den von uns verwendeten Zellen hat sich herausgestellt, daß eine weitgehende Konstanz der Empfindlichkeit sich nach einer gewissen Vorbelichtung einstellt. Diese beträgt für die Vakuumzelle 5, für das Sperrschichtelement etwa 8 Min.

3. Wichtig ist ferner eine gute Isolierung von Photozellen und Leitungen, damit nichtkontrollierbare Kriechströme vermieden werden.

Die Erdung von Flammenphotometer und Galvanometer ist zu empfehlen.

4. Richtige Analysenwerte werden nur dann erhalten, wenn die Mineralkonzentration der Eichlösungen der Mineralkonzentration der zu analysierenden Flüssigkeit entspricht. Es hat sich herausgestellt, daß die optimale Empfindlichkeit des Flammenphotometers und die geringsten technischen Fehler für Na in Konzentrationen zwischen 2—5 mg-%, für K zwischen 0,5—3, für Ca ebenfalls zwischen 0,5 bis 3 mg-% gelegen ist. Dementsprechend enthalten die Eichlösungen 0,5—8,0 mg-% Na zur Na-Analyse, 0,5—3,0 mg-% K zur Kalium- und ebensoviel zur Ca-Bestimmung. Die zu analysierenden Flüssigkeiten müssen also so weit verdünnt werden, daß ihr voraussichtlicher Na-, K- und Ca-Gehalt in die Zone der optimalen Empfindlichkeit fällt. Sera, deren Na-Gehalt um 300 mg-% liegt, werden zur Na-Analyse also 1:100 verdünnt; weil ihr K-Gehalt um 20 mg-%, ihr Ca-Spiegel um 10 mg-% liegt, dürfen sie zur K- und Ca-Bestimmung nur 1:10 verdünnt werden. Urine dagegen enthalten oftmals mehrere 100 mg-% K, werden demnach zur K-Bestimmung meist 1:100 verdünnt. Zur Ca-Analyse genügt jedoch eine Verdünnung 1:10, weil ihr Ca-Gehalt nur selten über 40—50 mg-% gelegen ist.

Durchführung der flammenphotometrischen Analyse.

Material: Flammenphotometer neuester Bauart mit auswechselbaren Farbfiltern zur Na-, K- und Ca-Bestimmung. Meßkolben verschiedener Größe. Vollpipetten von 0,5—100 cm³.

Reagenzien: $NaCl$ pro analysi
K_2SO_4 „ „
$CaCO_3$ „ „
HCl „ „

Zweckmäßig ist die Herstellung hochkonzentrierter *Stammlösungen*, aus denen später sämtliche Eichlösungen durch entsprechende Verdünnung zu bereiten sind.

a) 127,39 g $NaCl$/1000 cm³ H_2O = 5% Na-Lösung. 1 cm³ enthält 50 mg Na.

b) 22,289 g K_2SO_4/1000 cm³ H_2O = 1% K-Lösung. 1 cm³ enthät 10 mg K.

c) 12,48 g $CaCO_3$/1000 cm³ H_2O unter Zusatz von HCl (etwa 25 cm³ konz. HCl) = 0,5% Ca-Lösung. 1 cm³ enthält 5 mg Ca.

Die Vorbereitung der zu analysierenden Flüssigkeiten besteht lediglich in der Bereitung eines zweckmäßigen Verdünnungsgrades.

Ausführung der Analyse.

Nach Einstellen des für die Apparatur als optimal befundenen Preßluft-, *dann* des Azetylendruckes mit Hilfe der an den Stahlflaschen angebrachten Präzisionsreduzierventile kann nach etwa 10 Sek. die Flamme entzündet werden.

Für die Na-Analyse wird das Gelbfilter zusammen mit dem Selensperrschichtelement in den Strahlengang der Flamme eingeschraubt,

und die gewünschte Empfindlichkeit des Galvanometers mit Hilfe des am Arbeitsplatz angebrachten Potentiometers eingestellt. Nach Öffnung der Blende wird das Sperrschichtelement durch Verdampfen einer beliebigen Na-Lösung bis zur Konstanz des Galvanometerausschlages belichtet (etwa 8 Min.). Sodann wird der später von allen Galvanometerausschlägen abzuziehende Leerwert (L) durch Verdampfen von Aqua dest. festgestellt und anschließend die Eichkurve mit den vorher bereiteten Eichlösungen (Na-Konzentrationen meist 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 6,0 und 8,0 mg-%) aufgenommen. Nach kurzem Zerstäuben von Wasser, das die restlichen Eichlösungsnebel entfernen soll, wird die verdünnte Analysenflüssigkeit verdampft und die Eichkurve erneut aufgenommen. Bei etwa vorhandenen Differenzen der Eichkurvenwerte, welche möglicherweise 2—3 % betragen können, werden die Eichkurvenwerte gemittelt und nach Abzug des gefundenen Leerwertes in einem Koordinatensystem eingetragen. Nach Abzug des Leerwertes vom Analysenwert können nun die in der Flüssigkeit vorhandenen mg-% Na nach Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor direkt der Eichkurve entnommen werden.

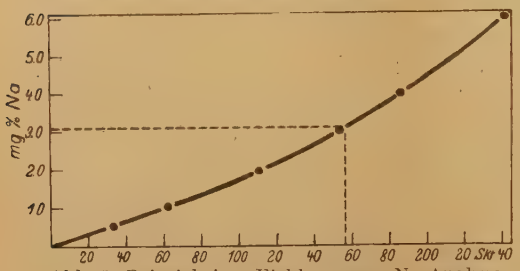


Abb. 5. Beispiel einer Eichkurve zur Na-Analyse. Vgl. Tabelle 10.

Tabelle 10. *Galvanometerausschläge zu einer Na-Analyse.* Vgl. Abb. 5.

Eichlösung mg-% Na	Leerwert L = 1		Mittelwert—L	
	Skt I	Skt II		
0,5	35	34	33,5	
1,0	63	63	62	
2,0	112	110	110	
3,0	155	154	153,5	
4,0	189	188	187,5	
6,0	244	243	242,5	
8,0	288	286	286	
Serum 1:100	157	157	156	= 310 mg-% Na

Für die sich der Na-Analyse anschließende K-Bestimmung (z. B. Verdünnungsgrad des Serums 1:10) werden Eichlösungen benötigt, welche neben ansteigenden Mengen K stets die im ersten Analysengang festgestellte Menge Na enthalten. Entsprechend einem normalen K-Gehalt des Serums von rund 18 mg-% (in der Verdünnung also 1,8 mg-%) enthalten die Eichlösungen 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 und 2,5 mg-% K bei

jeweils 31,0 mg-% Na, wenn wir das Beispiel der begonnenen Serumanalyse fortsetzen.

Nach Auswechseln des Gelbfilters gegen das Rotfilter und Einschalten der Vakuumphotozelle mit einer Vorspannung von etwa 100 V, Umstellen des Galvanometers auf eine geeignetere Empfindlichkeitsstufe wird die Analyse in derselben Weise wie oben ausgeführt. Doch wird zur Ermittlung des Leerwertes eine 31,0 mg-%ige Na-Lösung benötigt. Wir erhalten z. B. folgende Werte:

Tabelle 11. *Galvanometerausschläge zu einer K-Analyse.* Vgl. Abb. 6.

Eichlösung mg-% K	Leerwert = 9 Skt		
	Skt I	Skt II	Mittelwert—L
0,5	38	38	29
1,0	67	66	57,5
1,5	96	95	86,5
2,0	125	124	115,5
2,5	154	153	144,5
Serum 1:10	115	115	106 ≙ 18,5 mg-% K

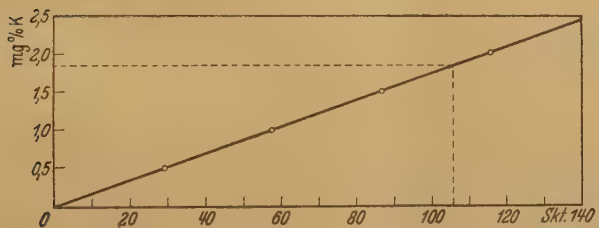


Abb. 6. Beispiel einer Eichlinie zur K-Analyse. Vgl. Tabelle 11.

Zur Ca-Analyse schließlich werden das Grünfilter und das Sperrschichtelement in den Strahlengang eingebracht, das Galvanometer auf die volle Empfindlichkeit eingestellt. Die Verdünnung des Serums beträgt wieder 1:10, so daß die Analysenflüssigkeit etwa eine 1,0 mg-% Ca-Lösung sein wird. Die dementsprechenden Eichlösungen enthalten zweckmäßig 0,5, 1,0, 1,5 und 2,0 mg-% Ca. Hinzuzufügen sind aus den oben angeführten Gründen wiederum die in den früheren Analysengängen gefundenen Na- und K-Werte. In unserem Beispiel also 31,0 mg-% Na und 1,85 mg-% K. Zur Bestimmung des Leerwertes dient eine Lösung, welche 31,0 mg-% Na und 1,85 mg-% K enthält. Die Ca-Analyse liefert Werte nach Tabelle 12.

Nach Beendigung der Analysen muß beim Löschen der Flamme zur Vermeidung ihres Durchschlagens durch den Brenner und Sprengung der unterhalb des Brenners befindlichen Mischkugel

zunächst die Azetylengaszufuhr und erst dann die Preßluft gedrosselt werden.

Werden Analysenserien aufgenommen, so genügt es, wenn zur Kontrolle der Konstanz der Eichkurve nach Verdampfen von jeweils 10 Analysenflüssigkeiten die Eichkurvenwerte erneut festgestellt werden.

Tabelle 12. *Galvanometerausschläge zu einer Ca-Analyse.* Vgl. Abb. 7.

Eichlösung mg-% Ca	Leerwert = 70 Skt		
	Skt I	Skt II	Mittelwert — L
0,5	96	96	26
1,0	123	122	52,5
1,5	149	148	78,5
2,0	176	174	105
Serum 1:10	120	120	50 = 9,5 mg-% Ca

Wie in der Einleitung bereits mitgeteilt, wurde die uns anfänglich zur Verfügung stehende Apparatur durch Kriegseinflüsse im Spätjahr 1944 weitgehend zerstört. Die Fortführung der Versuche konnte nur mit einer behelfsmäßig wiederhergestellten Anlage in einer für elektrische Geräte ungünstigen Umgebung (feuchtem Kellerraum) durchgeführt werden. An Stelle der zur Konstanterhaltung der Betriebsdrucke erforderlichen zweistufigen Präzisionsdruckminderer standen uns nur normale technische Reduzierventile zur Verfügung, was ein unvermeidbares, geringfügiges Schwanken des Azetylen- und Preßluftdruckes während der Analyse bedingte. Trotzdem konnten bei mehreren Bestimmungen des Na-, K- und Ca-Gehaltes derselben Analysenflüssigkeit gut übereinstimmende Werte gefunden werden. Bei unseren wegen der technischen Unvollkommenheit ungünstigen Versuchsbedingungen lag die Schwankungsbreite der einzelnen Analysen bei mehreren Aufnahmen für Na bei $\pm$ 3, für K und Ca bei $\pm$ 2% des Mittelwertes. Als Beispiel sei ein solcher Versuch zur Ermittlung der Schwankungsbreite der Werte bei der K-Analyse in der Tabelle 13 mitgeteilt. Dieselben Sera wurden an verschiedenen Tagen auf ihren K-Gehalt untersucht.

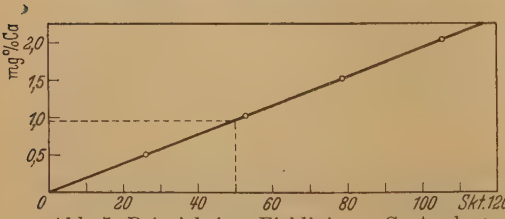


Abb. 7. Beispiel einer Eichlinie zur Ca-Analyse. Vgl. Tabelle 12.

Aus technischen Gründen konnten leider keine chemischen Vergleichsanalysen durchgeführt werden. Zur Ermittlung der Analysenfehler wurde folgendermaßen vorgegangen:

Die bei der ersten Analyse einer biologischen Flüssigkeit ermittelten Na-, K- und Ca-Werte wurden als richtig angenommen. Es wurde

Tabelle 13. *Prüfung der Apparatur auf Konstanz der K-Werte.* F-% = Fehler-%.

	14. 3. 47 mg-% K	17. 3. 47 mg-% K	21. 3. 47 mg-% K	23. 3. 47 mg-% K	23. 3. 47 mg-% K	24. 3. 47 mg-% K	Mittel	Differenz	F-%
Serum G	20,2	20,6	20,5	20,3	20,5	20,4	20,4	±0,2	±0,83
Serum Z	16,4	16,5	17,0	16,4	16,7	17,0	16,7	±0,3	±1,8
Serum B	15,7	16,0	15,6	15,5	15,8	15,8	15,7	±0,3	±1,9

gefordert, daß bei Zuwägungen von Na, K und Ca die erwarteten Endwerte innerhalb der Schwankungsbreite ermittelt werden konnten. Als Grundlage der Fehler-% wurde der erwartete Wert angenommen. Beispiel: Ein Serum enthalte 310 mg-% Na. Es werden 100 mg-% Na hinzugefügt. Gefunden werden statt der erwarteten 410 mg-% Na nur 400 mg-% = 2,45% Fehler.

Die folgenden Tabellen geben je 2 Beispiele von Na-, K- und Ca-Analysen der Einwägungsversuche wieder. Die eingewogenen Mengen entsprechen dem Verdünnungsgrad und müssen jeweils mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden, um den Analysenwert zu erhalten. (Das Serum wurde zur Na-Analyse 1:100, zur K- und Ca-Bestimmung 1:10, der Urin zur Na- und K-Analyse 1:100, zur Ca-Bestimmung 1:10 verdünnt.)

Aus den folgenden Tabellen 14—19 ist zu ersehen, mit welcher beachtlichen Genauigkeit die eingewogenen Mineralien analysiert werden können. Die Methode des Einwägens und die daraus errechenbaren Fehlergrenzen können einer Kritik gut standhalten. Auf Grund der vieljährigen Erfahrungen des einen von uns auch mit chemischen Methoden zur Bestimmung von Mineralien in biologischen Flüssigkeiten

Tabelle 14. *Bestimmung des Na-Gehaltes bei Einwägungen in Serum.*

	Erhalten mg-% Na	Erwartet mg-% Na	Differenz	Fehler-%
Serum	330	—	—	—
+ 0,5 mg-% Na + 0,08 mg-% K	380	380	0	0
+ 2,5 mg-% Na + 0,02 mg-% K	578	580	−2	−0,34
+ 1,5 mg-% Na + 0,06 mg-% K	484	480	+4	+0,83
Serum	337	—	—	—
+ 1,0 mg-% Na + 0,1 mg-% K	439	437	+2	+0,46
+ 3,0 mg-% Na + 0,6 mg-% K + 0,4 mg-% Ca	633	637	−4	−0,63
+ 2,0 mg-% Na + 0,7 mg-% K	536	537	−1	−0,19

Tabelle 15. *Bestimmung des Na-Gehaltes bei Einwägungen in Urin.*

	Erhalten mg-% Na	Erwartet mg-% Na	Differenz	Fehler-%
Urin	372	—	—	—
+ 0,5 mg-% Na	422	422	0	0
+ 0,2 mg-% Na	395	392	+3	+0,8
+ 2,0 mg-% Na	580	572	+8	+1,9
+ 0,5 mg-% Na + 3,0 mg-% K	429	422	+7	+1,6
+ 2,0 mg-% Na + 3,0 mg-% K	589	572	+17	+2,9
+ 3,0 mg-% K	377	372	+5	+1,4
+ 0,5 mg-% K	372	372	0	0
+ 3,0 mg-% K + 0,4 mg-% Ca	380	372	+8	+2,1
+ 2,0 mg-% Na + 0,3 mg-% K + 0,4 mg-% Ca	576	572	+4	+0,7

Tabelle 16. *Bestimmung des K-Gehaltes bei Einwägungen in Serum.*

	Erhalten mg-% K	Erwartet mg-% K	Differenz	Fehler-%
Serum	18,5	—	—	—
+ 0,2 mg-% K	20,2	20,5	—0,3	—1,45
+ 0,5 mg-% K	23,0	23,5	—0,5	—2,2
+ 1,0 mg-% K	28,3	28,5	—0,2	—1,75
Serum	17,8	—	—	—
+ 1,0 mg-% K	28,2	27,8	+0,4	+1,4
+ 3,0 mg-% K	48,6	47,8	+0,8	+1,7
+ 5,0 mg-% K	68,2	67,8	+0,4	+0,6

Tabelle 17. *Bestimmung des K-Gehaltes bei Einwägungen in Urin.*

	Erhalten mg-% K	Erwartet mg-% K	Differenz	Fehler-%
Urin	135	—	—	—
+ 0,5 mg-% Na	137	135	+2	+1,5
+ 2,0 mg-% Na	140	135	+5	+2,8
+ 0,2 mg-% K	156	155	+1	+0,6
+ 0,5 mg-% K	188,5	185	+3,5	+1,9
+ 3,0 mg-% K	440	435	+5	+1,1
+0,5 mg-% Na +3,0 mg-% K	438	435	+3	+0,7
+ 2,0 mg-% Na + 3,0 mg-% K	447	435	+12	+2,7
+ 2,0 mg-% Na + 0,3 mg-% K + 0,4 mg-% Ca	166	165	+1	+ 0,6

Tabelle 18. *Bestimmung des Ca-Gehaltes bei Einwägungen in Serum.*

	Erhalten mg-% Ca	Erwartet mg-% Ca	Differenz	Fehler-%
Serum	10,3	—	—	—
+ 0,1 mg-% Ca	11,3	11,3	0	0
+ 0,2 mg-% Ca	12,5	12,3	+0,2	+1,6
+ 0,3 mg-% Ca	13,5	13,3	+0,2	+1,5
Serum	9,1	—	—	—
+ 0,05 mg-% Ca	9,6	9,6	0	0
+ 1,0 mg-% Ca	19,1	19,1	0	0
Serum	10,1	—	—	—
+ 0,1 mg-% Ca	11,0	11,1	—0,1	—0,9
+ 0,2 mg-% Ca	12,0	12,1	—0,1	—0,8
+ 1,5 mg-% Ca	24,7	25,1	—0,4	—1,6

Tabelle 19. *Bestimmung des Ca-Gehaltes bei Einwägungen in Urin.*

	Erhalten mg-% Ca	Erwartet mg-% Ca	Differenz	Fehler-%
Urin	8,4	—	—	—
+ 1,0 mg-% Ca	18,5	18,4	+0,1	+0,5
+ 4,0 mg-% Ca	47,9	48,4	—0,5	—1,0
+ 4,0 mg-% Ca + 3,0 mg-% K	47,7	48,5	—0,7	—1,4

glauben wir sagen zu dürfen, daß die Fehlerbreiten beim physikalischen Verfahren geringer sind als bei den chemischen, zumal in den wenigsten Fällen erfahrene Fachchemiker die Analysen ausführen.

Kritik der Methode.

Die oben mitgeteilte flammenphotometrische Methode läßt sich schon jetzt trotz ungünstiger Versuchsbedingungen mit mindestens derselben Genauigkeit wie die chemischen Bestimmungsarten durchführen. Sie bietet jedoch den Vorteil, den Na-, K- und Ca-Gehalt der zu untersuchenden Flüssigkeiten ohne größere Vorbereitung und ohne wesentlichen Zeitaufwand bestimmen zu können. (Bei einiger Übung lassen sich z. B. etwa 200 Na-Analysen bequem an einem Vormittag durchführen.) Hierdurch ist die Möglichkeit gegeben, selbst große Analysenserien auszuführen, bei welchen chemische Methoden wegen methodischer und technischer Schwierigkeiten versagen. Ein weiterer Vorteil des physikalischen Verfahrens liegt in der geringen erforderlichen Substanzmenge. Schon $^1/_{10}$ cm³ der zu analysierenden biologischen Flüssigkeit (Serum, Urin usw.) genügt, um exakte Werte zu erhalten.

Die Fehlerbreite der flammenphotometrischen Methode für Na-, K- und Ca-Analysen, welche zur Zeit 2—3% beträgt, liegt vor allem an der augenblicklichen unvollkommenen, technischen Ausrüstung unserer Apparatur und ist in Kürze durch die Verwendung von

Präzisionsdruckminderern und ermüdungsfreien Vakuumphotozellen wesentlich zu vermindern.

Der physikalisch bedingte Fehler für die Na- und K-Analyse hat seine Ursache in der gegenseitigen Anregung der Elemente in der Flamme. Er kann bei den biologischen Flüssigkeiten für die Na-Bestimmung unberücksichtigt bleiben, deren K-Gehalt bei einer Verdünnung 1:100 unter 0,5 mg-% liegt (immer in Serum und Liquor). Bei klinischen Untersuchungen, z. B. des Urins spielen jedoch selbst Fehler von etwa 6% meist keine Rolle. Sofern genauere Mineralwerte ermittelt werden sollen, müssen die oben angegebenen Korrektionsmöglichkeiten angewandt werden.

Die Unbequemlichkeit, vor der K- und Ca-Bestimmung stets auch die Na- bzw. Na- und K-Analyse durchführen zu müssen, ist in An betracht der schnellen Ausführbarkeit der Analyse nicht erheblich. Auch ist zur klinischen Beurteilung der Werte meist die Kenntnis der Mineralrelation erwünscht (Jesserer u. a.).

Zusammenfassung.

Es wird eine flammenphotometrische Methode zur Bestimmung des Na-, K- und Ca-Gehaltes biologischer Flüssigkeiten mitgeteilt. Die Methode beruht auf dem Prinzip, daß das durch Verdampfen der verdünnten biologischen Flüssigkeiten in der konstant brennenden Azetylenpreßluftflamme erzeugte Mischlicht nach Passieren von geeigneten, jeweils das Na-, K- und Ca-Licht möglichst selektiv aussondernden Filtern photometriert wird. Vor der eigentlichen Analyse wird jeweils eine Eichkurve aufgenommen, aus welcher später der entsprechende Mineralgehalt der Flüssigkeit in mg-% abgelesen werden kann. Die Fehlerbreite der verwendeten, aus zeitbedingten Gründen technisch nicht vollkommenen Apparatur beträgt höchstens 2—3% für Na-, K- und Ca-Analysen. Die Senkung dieser Fehlerbreite ist nach technischer Verbesserung der Apparatur möglich. Die Vorteile der Methode liegen in dem geringen Verbrauch von Analysensubstanz sowie in der schnellen Durchführbarkeit größerer Analysenreihen.

Herrn Prof. Dr. Mecke, Direktor des Physikalisch-Chemischen Instituts der Universität Freiburg, sind wir für die Überlassung von Galvanometer und Photozellen zu Dank verpflichtet.

Literatur.

Belke: Beitrag zur Frage rhythmischer Vorgänge des Mineralstoffwechsels. Inaug.-Diss. Freiburg 1945. — Gerlach: Die chemische Emissions-Spektralanalyse. Leipzig 1930. — Jesserer: Dtsch. med. Wschr. **1942**, 857. — Lundegardh: Nach Norinder. Uppsala Läk.för. Förh. **45** (1939/40). — Rauterberg u. Knippenberg: Z. Bodenk. **20**, 364 (1941). — Schuhknecht u. Waibel: Angew. Chem. **50**, 299 (1937). — Sewig: Objektive Photometrie. Berlin: Springer 1935.

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der ehemaligen Universität Breslau.

Über die Umsetzungen von Pyrophosphat am Froschherzen*.

Von

O. Eichler und W. Stober.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 5. Mai 1944.)

Das hier behandelte Problem ergab sich aus früheren Untersuchungen[1], in denen eine gewisse Abhängigkeit der Umsetzungen von den Aktionen des Herzens vorhanden zu sein schien. Ein in dieser Hinsicht positiver Befund hätte uns zu der weiteren Frage geführt, ob die durch die Spaltung freiwerdende freie Energie (nach Kalckars[2] Angaben mit $\Delta F \cong +10000$ cal zu rechnen) in wirkliche mechanische Energie umgesetzt werden könne. Da Pyrophosphat nicht in das Innere der Zelle einzudringen vermag, wäre ein positiver Befund von besonderem Interesse. Das Resultat liegt nicht in dieser Richtung, sondern bringt einen Beitrag über die Struktur der oberflächlichen Zellschicht.

1. Umsetzungen des Pyrophosphats durch Abgabe von Ferment in die Kanüle.

Da wir die Umsetzungen von Pyrophosphat nur nach dem Auftreten von o-Phosphat beurteilten (das nach üblicher Weise mit der Methode von Subarow und Fiske nach der Modifikation von Lohmann im Kolorimeter von Havemann bestimmt wurde), war die Feststellung notwendig, ob von dem schlagenden Froschherzen o-Phosphat an den Kanüleninhalt in meßbarer Menge abgegeben wurde. Darüber liegen bereits negative Versuche von Clark und Eggleton[3] vor, die weit über die von uns im Versuch gegebenen Grenzen hinausreichen: sie wurden von uns bestätigt, so daß wir also mit einer Störung von dieser Seite nicht zu rechnen brauchen.

Wichtiger ist die Frage, ob in den Kanüleninhalt eine Pyrophosphatase aus dem Herzen abgegeben wird, so daß eine Reaktion in dem Inhalt und nicht an der Herzmuskelphase anzunehmen wäre. Wir geben zwei Versuche als Beispiel auf Abb. 1 wieder.

Herrn Geheimrat Prof. Straub zum 70. Geburtstag.

[1] Eichler, O. u. E. Wolff: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **203**, 1 (1944). — [2] Kalckar, H. M.: Biol. Rev. **1942**, 28. — [3] Clark, A. J., M. G. u. P. Eggleton: J. Physiol. (Brit.) **72**, 29 P (1931).

Der isolierte Ventrikel eines Temporarienherzens (Versuche Dezember 1943 bis März 1944) schlug an der Straub-Kanüle bei festgehaltener Temperatur von 21° mit 2,4 cm³ Flüssigkeit Inhalt mit einer Frequenz von 10 Reizen je Minute. Die Flüssigkeit blieb je bestimmte Zeiten (Abszisse der Abbildung) in Berührung mit dem Ventrikel, wurde dann in ein Kölbchen gebracht und dort 0,8 cm³ m/100 Pyrophosphat bei p_H 7,2 zugesetzt. Etwas Chloroform sollte Bakterienwachstum unterbinden. Diese Mischung blieb bei Zimmertemperatur (19—21° kontrolliert) 17—18 Stunden stehen. Nach Zusatz von Trichloressigsäure wurde in üblicher Weise die Wirksamkeit des Ferments durch Bestimmung von o-Phosphat festgestellt. Auf der Abb. 1 wurden hintereinander die Zeiten des Kontakts der untersuchten Lösung mit dem Herzen gesteigert.

Es ergibt sich aus der Abb. 1, daß die abgegebene Fermentmenge bei jedem Wechsel der Kanülenflüssigkeit geringer wird, aber sich wieder steigern läßt, wenn die Flüssigkeit länger einwirkte. Wir wählten für die Abb. 1 außerdem absichtlich einen Versuch, an dem diese Gesetzmäßigkeit in dem dritten 5-Minutenversuch durchbrochen wurde. Hier wurde aus den Muskelspalten sichtbar Blut freigegeben, also war zusätzlich eine Blutphosphatase wirksam. Deshalb wurde kein Versuch begonnen, ehe nicht mindestens 30 Min. mit sechsmaligem Wechsel der Flüssigkeit gespült wurde. Da die meisten Versuche 60 Min. dauerten, konnten wir im Inhalt der Kanüle nur eine Phosphatasemenge erwarten, die in 17 Stunden 15 γ Pyrophosphat-P freimachte. Der eine von uns dargestellte Versuch zeigte zugleich den höchst beobachteten Wert. Da in unseren Versuchen eine Fermentwirksamkeit sofort abgebrochen wurde, würde auf diesem Wege maximal die Menge von $< 1\,\gamma$ P auftreten können, unter den gleichen Konzentrationsbedingungen unserer Versuche also höchstens etwa 1%. Wir konnten daher bei unseren Zahlen von dieser Art der Umsetzung absehen. Wenn an demselben Herzen zwei Umsetzungsversuche vorgenommen wurden, ergab sich beim zweiten Versuch entweder gar keine oder eine außergewöhnlich geringe Abnahme der Umsetzungen (teilweise auch Steigerung) als ein Zeichen dafür, daß dieser Verlust an Phosphatase — wenn überhaupt — nur eine sehr geringe Beeinflussung bedeutete und die tatsächliche Wirksamkeit an der Zellenoberfläche verankert ist. Allerdings wurden nie häufig wiederholte Versuche an einem Herzen vorgenommen. Auf der Abb. 1 sieht man, wie rasch ein Blutrest in den Spalten beseitigt wird. Das somit beobachtete Ferment wird ein Ferment, in Lysoform übergegangen, von der Muskelfaser darstellen. Die Menge im Kanüleninhalt entspricht nur der Störung

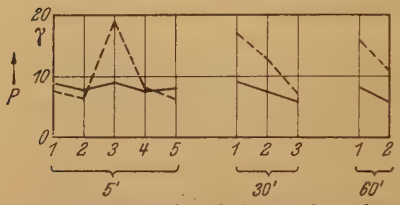


Abb. 1. Pyrophosphatase abgegeben vom Herzmuskel in die Kanülenflüssigkeit, gemessen an freigemachtem P (Ordinate); aufgetragen auf die Abszisse die Zeit, während welcher der Kanüleninhalt mit dem Herzen in Berührung war. Jede Periodenlänge wurde wiederholt.

unserer weiteren Versuche, jedoch wäre eine größere Abgabe darstellbar, wenn man einen Aktivator (Mg, Mn) zusetzte.

2. Umsetzungen in Abhängigkeit von der Pyrophosphatkonzentration.

Der nächste Schritt diente der Frage, welche Abhängigkeit der Umsetzungen zu den angebotenen Pyrophosphatkonzentrationen und der Dauer der Einwirkung besteht. Wir begannen unsere Versuche mit 15 Min. und fanden in der ersten Stunde eine Umsetzung etwa proportional der Zeit. Insgesamt wurden bis 4 Stunden beobachtet und im späteren Verlauf eine deutliche Abnahme der Pyrophosphatzersetzung festgestellt. Wir maßen diese Umsetzungen in freigesetzter Menge/Stunde und geben die Versuche bei drei verschiedenen Konzentrationen auf Tabelle 1 wieder.

Tabelle 1.

Konzentration	Aufgefundenes o-Phosphat je Stunde								
	in der 1. Stunde			in der 2. Stunde			in der 3.—4. Stunde		
	Zahl der Herzen	Umgesetzte Menge absolut γP	Prozent des zugegebenen P_2O_7	Zahl der Herzen	Umgesetzte Menge absolut γP	Prozent des zugegebenen P_2O_7	Zahl der Herzen	Umgesetzte Menge absolut γP	Prozent des zugegebenen P_2O_7
m/ 400	11	100,0	20,1	6	46,2	9,25			
m/ 800	7	64,8	26,1	7	56,2	22,6			
m/1600	9	55,8	44,9	3	25,8	20,8	4	2,4—2,7	2,1

Bei diesen Werten ist vorerst ein Vergleich mit unseren früheren orientierenden Versuchen notwendig. Wir fanden eine Umsetzung von m/1600 Pyrophosphat in den ersten 20 Min. nicht wahrnehmbar und selbst nach 24 Stunden noch nicht vollkommen, während hier schon in kurzer Zeit beträchtliche Mengen umgesetzt waren. Nur unsere damaligen langdauernden Versuche lassen sich mit den jetzigen vergleichen, da anscheinend eine Art Gleichgewicht stattfindet durch die Ansammlung des entstehenden o-Phosphats.

Den Unterschied können wir nur auf das differente Froschmaterial beziehen. Damals waren es Sommerfrösche, hier Winterfrösche. Wir fanden hier auch eine Abweichung im Mechanogramm, indem manchmal bei sehr langdauernder Einwirkung derselben Pyrophosphatlösung die höheren Amplituden schließlich geringer wurden. Man könnte das — mit aller Vorsicht — in Einklang zu bringen versuchen mit der Pyrophosphatumsetzung. Es erweist sich als vorteilhaft, daß wir schon damals bestimmte Analysen ausführten, wenn auch sonst qualitative Abweichungen nicht bestehen.

Die Hemmung der Umsetzungen durch Phosphat ist allen Phosphatasen eigentümlich. Nach den vereinfachenden Annahmen von Michaelis und Menten[4] über die Wirkung von Invertase wurde von

[4] Michaelis, L. u. M. L. Menten: **Biochem. Z. 49, 333 (1913).**

Jacobsen[5] für Phosphatasen eine Umsetzungsformel abgeleitet, die wir modifiziert hier wiedergeben, weil sie uns den qualitativen Einblick über unsere Resultate ermöglicht:

$$-\frac{\Delta[P_2O_7]}{\Delta t} = C \frac{[P_2O_7]}{K_1 + \frac{K_1}{K_2}[PO_4] + [P_2O_7]}.$$

C ist eine Konstante, die mit der Fermentmenge zusammenhängt, K_1 ist die Konstante der Reaktionsgeschwindigkeit der P_2O_7-Spaltung, nachdem die Bindung an der Fermentoberfläche erfolgt ist. K_2 ist die Affinitätskonstante des PO_4 zu dem Ferment, das damit für die P_2O_7-Bindung blockiert ist.

Wenn man beachtet, daß $[PO_4] = 2\ (A - [P_2O_7])$ ist, mit A als Anfangskonzentration des Pyrophosphats, ersieht man, daß die Integration leicht ausführbar ist, aber zusammen mit den Integrationskonstanten schließlich vier Konstanten ergibt, für deren Festlegung aus Tabelle 1 nur sieben Werte zur Verfügung stehen.

Es ist außerdem nicht möglich, aus dem Anfangswert für $\frac{\Delta[P_2O_7]}{\Delta t}$, wo $[PO_4]$ noch vernachlässigt werden kann, K_1 zu bestimmen und so die Konstanten zu isolieren. Denn bei den ersten Zeitintervallen der Tabelle 1 von einer Stunde sind die Umsetzungen schon viel zu hoch, über 20%, und zeigen bei Ausrechnung schon deutliche Störungen von seiten des freigemachten Phosphats. Bei Versuchen mit Fermentpräparaten in vitro ist ein Umsatz von nur wenigen Prozenten (höchstens 10%) des anwesenden Substrats — hier bei Pyrophosphaten wohl nur die Hälfte — zugelassen, um die Fermentaktivität zu bestimmen.

Wenn wir auf der Tabelle 1 zahlenmäßig nicht gesondert wiedergegebene Werte nach ganz kurzer Beobachtungszeit (etwa 15 Min.) in Betracht ziehen, ergibt sich bei m/400 P_2O_7 ein geringerer Umsatz als später. Das liegt an der während der Reaktion (s. dazu Eichler und Wolff[1]) herabgesetzten mechanischen Aktivität des Herzens. Diese führt zu verminderter Durchmischung des Inhalts, wie frühere Versuche[6] zeigten*. Damit wird das Verhältnis $[P_2O_7]/[PO_4]$ in der Nähe der Muskelfasern und der Umsatz verkleinert. Das ist das, was wir an der wiedergegebenen Formel quantitativ ablesen können und das sich schließlich auch aus den anderen Zahlen der Tabelle 1 ableiten läßt, nämlich

1. der Umsatz steigt mit der angebotenen Substratkonzentration;
2. er sinkt mit größerer Phosphatmenge.

[5] Jacobsen, E.: Biochem. Z. **249**, 21 (1932); **267**, 89 (1933). — [6] Eichler, O.: Pflügers Arch. **247**, 264, 268 (1944).

* Das gilt nur für die hohe Konzentration mit langdauernder Depression der mechanischen Aktivität. Bei m/1600 sieht man nach 30 Min. einen erhöhten Umsatz, der einem Umsatz von 80 γ (zwei Versuche) ergeben würde, wenn die Hemmung des Phosphats nicht einsetzte.

Nach dieser Formel müßte er aber nicht absolut mit der Phosphatmenge sinken, wie es tatsächlich nach den Tabellenwerten geschieht, sondern es dürfte nur das Verhältnis $[PO_4]/[P_2O_7]$ maßgeblich sein. Auch JACOBSEN[5] fand bei seinen Versuchen ähnliche Abweichungen und unterteilte die Phosphatwirkung in zwei Komponenten, eine abhängig, die andere unabhängig vom Substrat, wie man es auch aus unseren Versuchen ablesen kann, z. B. bei kleinen Konzentrationen von Substrat (m/1600 in der 3.—4. Stunde) ist die Hemmung des Phosphats größer als bei größeren. Die Annäherung der Umsetzungskurven an den monomolekularen Verlauf ist hier am deutlichsten. JACOBSEN[5] fügte in die Gleichung ein aus dem MICHAELISschen Ansatz nicht unmittelbar hervorgehendes Korrekturglied ein.

Die Tabelle 1 weist also auf die Wirkung einer Phosphatase hin. Bevor wir das aber weiter verfolgen, ist es notwendig, auf unsere Anfangsfrage, die Abhängigkeit der Umsetzungen von der mechanischen Aktivität, einzugehen.

3. Umsetzungen des Pyrophosphats in Abhängigkeit von der mechanischen Leistung.

Wir veränderten die mechanische Leistung auf zwei Wegen, durch Veränderung der Frequenz und des Druckes.

Die Reizfrequenz wurde von 4—50 Reizen/Minute variiert, während sonst z. B. in den Versuchen von Tabelle 1 und später 10 Reize/Minute zur Anwendung kamen. Die Konzentration wurde von jetzt auf m/800 Pyrophosphat festgehalten, bei der es am wenigsten Störungen von seiten des Herzens gibt bei genügend hoher zur Analyse geeigneter Umsetzung. Die Temperatur wurde auf 21°, die Zeit auf 1 Stunde festgehalten. Die Reihenfolge der Versuche, ob hohe oder niedere Reizfrequenz zuerst erfolgte, wechselte. Die Prüfung wurde an 18 Herzen vorgenommen.

Tabelle 2. (*γ P/Stunde in der Kanüle.*)

Versuchs-Nr.	Reizzahl/Minute				
	4	20	30	40	50
65			49	46	
66			130	122	
67		79			68
106	57	71		69	

Die Versuche ließen jede Abhängigkeit von der Reizfrequenz vermissen. Als Beispiel geben wir in Tabelle 2 eine Reihe von Versuchen wieder, bei denen an demselben Herzen mehrere Versuche vorgenommen wurden. Die Tabelle 2 soll durch einige extreme Werte außerdem zeigen, daß die Spaltungsaktivität von Herz zu Herz sehr stark schwanken kann, wie auch sonst bei der Isolierung des Ferments aus den Geweben, daß aber die einzelnen Herzen bei wiederholten Versuchen untereinander nur kleine Abweichungen ergeben.

Am letzten Herzen wurden drei Versuche ausgeführt, und es sieht so aus, als ob bei extrem langsamer Schlagzahl von 4/Minute vielleicht

doch eine Wirkung vorhanden ist. Vier weitere Herzen mit derselben Frequenz zeigen folgende Umsetzungen: 78, 77, 88, 92 γ, also durchaus in die sonstigen Werte hineinpassend, vielleicht etwas höher, weil die Stundenwerte aus einer Versuchsdauer von 30 Min. ausgerechnet wurden. Das zeigt zugleich, daß die Reaktion an der Oberfläche der Zellen im Verhältnis zur Schlagzahl genügend langsam verläuft, um mit dieser geringen Zahl von Reizen auszukommen.

In einer weiteren Versuchsserie an neun Herzen wurde zur Erhöhung der mechanischen Arbeit der Druck von dem Innern der Kanüle aus gesteigert und an demselben Herzen in wechselnder Reihenfolge ohne Überdruck und bei 8 cm^3 H_2O verfolgt. Der Umsatz war bei den höheren Drucken stets höher, der Durchschnitt der Steigerung betrug 31,6%.

Das Resultat läßt sich mit dem vorigen nur vereinen durch die Deutung, daß dieser erhöhte Umsatz nicht mit der vermehrten mechanischen Arbeit unmittelbar zusammenhängt (dafür bringen wir noch weitere Argumente), sondern mit der durch die Dehnung erfolgten Zunahme der reagierenden Oberfläche.

In einer weiteren Serie wurde deshalb der orientierende Versuch unternommen, eine quantitative Beziehung zu dem diastolischen Volumen zu gewinnen. Doch erwiesen sich die Verhältnisse aus verschiedenen Gründen als schwieriger und nicht eindeutig.

Als Methode diente uns eine Vorrichtung, wie sie Sanders[7] nach einer Konstruktion von Rhode und Usui verwendet hat. Der Überdruck wird durch einen negativen Druck von außen hergestellt. Die mechanischen Verhältnisse sind nicht dieselben wie bei der vorher benutzten Anordnung von Straub, bei der schon anfangs ein Hebel die Spitze belastete.

Einige kurze Bemerkungen über die elastischen Veränderungen des Herzmuskels unter den von uns angewandten Konzentrationen von Pyrophosphat seien gestattet, da hier eine spätere Analyse tiefer eindringen, insbesondere auch das Verhältnis zu Phosphat klarstellen soll.

Die elastische Dehnungskurve wird nicht verändert, auch nicht während der Reaktion I. Das Volumen wird nur systolisch beschränkt, aber im Ausmaß weniger und flüchtiger, als man nach dem Mechanogramm erwarten sollte. In der Reaktion II war das Schlagvolumen häufig sogar größer als vorher. Es gibt keine Gründe, unsere bisherigen Darlegungen zu modifizieren.

Bei der Darlegung unserer Untersuchungen mit dieser Methodik müssen wir zwei Teile in den Resultaten trennen. In der einen Gruppe wird dasselbe gefunden wie in den vorigen Versuchen, d. h. Umsatzsteigerung bei Dehnung. In der zweiten Gruppe aber wird bei Drucksteigerung entweder gar keine Abweichung gefunden, oder sogar eine Minderung des Umsatzes. Die Steigerung findet sich nur, wenn man von einem Anfangsdruck von 3—4 cm auf einen Druck von 8 cm steigt. Steigert man den Druck weiter, z. B. auf 20 cm, dann ergibt sich dagegen sogar eine Senkung (von allerdings nur wenig mehr als 10%)

[7] Sanders, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **125**, 358 (1927).

trotz stärkerer Dehnung. Wir haben also anscheinend ein Optimum vor uns. Die Ursache dafür ist leicht anzugeben, denn wie in unseren kürzlichen Darlegungen[6] ausgeführt wird, ist die Zirkulation in den Spalten des Herzens bei hohen Drucken geringer. Was also an Dehnung gewonnen wird, geht durch die Einschränkung der gut umspülten Oberfläche verloren.

Diese Verhältnisse zeugen von der Schwierigkeit, durch die vorher mitgeteilte Reaktionsgleichung die zur Feststellung notwendigen Konstanten zu bestimmen. In jedem Fall muß die gemessene pyrophosphatatische Aktivität eine untere Grenze sein und das Bild und die Streuung der Werte komplizieren. Eine Abhängigkeit zur mechanischen Leistung besteht nicht. Die Frage, ob die bei der Spaltung von Pyrophosphat freiwerdende mechanische Energie für die Muskelkontraktionen nutzbar gemacht werden kann, muß also verneint werden, wenigstens soweit Zunahme der mechanischen Anforderungen sich in einem erhöhten Umsatz zeigen muß.

4. Abhängigkeit der Umsetzungen von der Temperatur.

Die Bestimmung des Temperaturquotienten sollte uns darüber orientieren, ob bei den hier gemessenen Umsetzungen eine Verwandtschaft zu einer der früher (Eichler und Wolff[1]) mit Reaktion I und II bezeichneten Reaktionsarten existiert.

Das Herz wurde wie früher in ein Gefäß mit entsprechend temperiertem Mantel gebracht, die Kanülenflüssigkeit entsprechend vorgekühlt. Konzentration m/800, Reize 10/Minute.

Tabelle 3.

Nr. des Herzens	Umsatz in Gamma bei einer Temperatur von						Temperaturquotienten Q_{10}	Durchschnitt
	5°	11°	15°	21°	25°	29°		
71	—	76	—	89	—	—	1,17	
72	—	62	—	93	—	—	1,50	
90	—	30	—	38	—	—	1,27	
91	—	48,5	—	78	—	—	1,61	
92	—	39	—	71	—	—	1,82	
93	—	29	—	56	—	—	1,93	
94	—	40	—	55	—	—	1,38	
95	—	32	—	53,5	—	—	1,67	1,54
96	—	—	—	96	—	102	1,29	
98	47	—	—	—	102	—	1,47	1,40
99	43	—	—	—	75	—	1,32	
100	17	—	29	—	—	—	1,71	1,56
101	55	—	77	—	—	—	1,40	

Die Resultate geben wir auf Tabelle 3 wieder.

Es ist ersichtlich, daß der Temperaturquotient Q_{10} wenigstens in dem unteren Temperaturbereich bis 21° keine Abnahme aufweist, wenn

man die Streuungen nicht berücksichtigt. Wenn man davon absieht, könnte man vielleicht in der Temperatur oberhalb 21° eine Abnahme von Q_{10} annehmen, wie es bei biologischen Objekten häufig gefunden wurde. Bei unseren früheren Messungen[1] hatten wir solche Abnahme nicht gefunden. Wir legen auch darauf keinen Wert, sondern uns interessiert die absolute Größe von Q_{10}, die deutlich unterhalb der früheren Werte, insbesondere von Reaktion II, bleibt und damit einen neuen Hinweis gibt, daß die Umsetzungen mit den mechanischen Effekten des Pyrophosphats nichts zu tun haben. Wir haben uns schon damals damit ausführlich auseinandergesetzt und geben hier nur eine Erweiterung.

Dagegen sehen wir mit $Q_{10} = 1{,}5$ eine Ähnlichkeit mit anderen fermentativen Umsetzungen, z. B. den Messungen von Ambard und Trautmann[8], die bei Carbohydrasen in bestimmten mittlerem Bereich des Aktivators den Wert 1,4—1,6 angeben. Damit haben wir einen neuen Hinweis, daß hier an der Oberfläche der Herzmuskelfaser eine Pyrophosphatase wirksam ist. Einige Eigenschaften zur Einreihung des Ferments wollen wir noch in den nächsten Versuchen kennenlernen.

5. Beeinflussung der Umsetzung durch Magnesium.

Das Verhalten der Phosphatasen gegenüber Mg wurde vor allem durch die Arbeit von Bamann und Gall[9] (siehe besonders auch[10]) klargestellt. Es ergab sich gerade am Verhalten gegenüber Mg ein wichtiger Unterschied zwischen Lyo- und Desmoenzym. Unsere Befunde geben wir auf Tabelle 4 wieder.

Tabelle 4. *Temperatur 21°, Reizfrequenz: 10 Reize/Minute. Dauer der einzelnen Versuche 60 Min.*

Nr. des Herzens	Normalumsatz ohne $MgCl_2$	Umsatz mit m/400 $MgCl_2$	Hemmung des Umsatzes gegenüber Normalumsatz in %
107	73,5	46	37,4
108	114	74	35,1
110	79	55	30,4
111	87,5	49	44,0
112	106	60	43,4
113	74	41	44,6
114	70	45	35,7
115	81	48	40,7
116	68	42	38,2

Tabelle 4 zeigt die Sicherheit, mit der man mit Mg eine Hemmung erzielen kann, zugleich die Abhängigkeit der Hemmung von der Aktivität des Herzens, so daß der Prozentsatz eine sehr geringe Streuung

[8] Ambard, L. u. S. Trautmann: C. r. Soc. Biol. **121**, 470 (1936). — [9] Bamann, E. u. H. Gall: Biochem. Z. **293**, 1 (1937). — [10] Bamann, E.: In Methoden der Fermentforschung, herausgeg. von Bamann und Myrbäck.

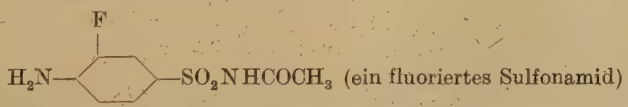
ergibt. Bei kleinen Konzentrationen von Mg hörte die Hemmung auf. Damit schließt sich die Reaktion an die Eigenschaften eines Desmoenzyms an, das durch Mg zum mindesten wenig aktivierbar, in Konzentrationen von Mg schon eine Hemmung erfährt, die ein Lyoenzym um mehrere 1000% aktivieren. Unsere anfänglich mitgeteilten Analysen über die Wirksamkeit des in der Kanülenflüssigkeit abgegebenen Ferments wiesen schon deutlich auf eine Reaktion an der Oberfläche der Zellen, also einer fixierten Zellstruktur hin.

6. Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration.

Zur Charakterisierung gerade einer Phosphatase wird man die Stelle der maximalen Aktivität in der p_H-Skala rechnen müssen. Da wir am lebenden Objekt arbeiteten und — wie unsere ganze Darstellung ergibt — noch eine gute mechanische Wirksamkeit verlangen mußten, waren wir in dem Bereich sehr beschränkt und wählten nur zwei verschiedene Aziditäten: p_H 7,2 und 7,6, die mit der Glaselektrode eingestellt und kontrolliert wurden. Es ergab sich aus Versuchen an acht Herzen (zur Hälfte nach dem Schema A-B-A) bei p_H 7,6 eine Steigerung der Umsetzung von Pyrophosphat um rund 20%. Das weist auf eine alkalische Phosphatase hin.

7. Wirkung eines Hemmungskörpers.

In unveröffentlichten Versuchen[11] war uns in einer organischen Fluorverbindung folgender Konstitution



(ein fluoriertes Sulfonamid)

ein Körper bekannt geworden, der die alkalische Phosphatase des Knochens hemmte. Nach Versuchen mit G. Meyer bildet er mit Mg und Mn Komplexe. Diesen wandten wir in Konzentration von m/800 und m/400 in Versuchen an fünf Herzen an und fanden eine Hemmung von etwa 10—50%. Die Reihenfolge der Versuche mußte so vor sich gehen, daß zuerst der Normalumsatz, dann der unter Fluorid geprüft wurde, denn bei längerer Einwirkung des Fluorids und des Pyrophosphats gemeinsam, kommt es leicht zu Schädigungen der Mechanik und den daraus indirekt resultierenden Konsequenzen. Demgemäß wurden die Versuche verwertet. Die Befunde erhärteten nur die schon vorher ausgesprochene Vermutung, daß es sich bei diesem Desmoenzym um eine alkalische Phosphatase handelt, die allerdings bei den Versuchen von Bamann und Gall[9] in anderen Geweben sich als durch Mg aktivierbar erwiesen hat.

[11] Eichler, O., H. Hindemith u. F. Barfuss: Unveröffentlichte Versuche, erscheint demnächst in Arch. exper. Path.

8. Einige zusätzliche Bemerkungen.

Unsere Untersuchungen gerade über das nicht ins Zellinnere eindringende Pyrophosphat geben die Möglichkeit, auf der Oberfläche der Zellstrukturen eine alkalische Pyrophosphatase zu lokalisieren. Die Forschungen über die Aktivierbarkeit des Ferments durch Mg als Co-Ferment, sind noch nicht weit genug fortgeschritten, um bei diesem Desmoenzym den gleichzeitigen Einbau von Mg fordern zu können, etwa weil die Kanülenflüssigkeit keinen Aktivator enthielt. Über die rein qualitative Aussage hinausgehend, wollen wir jedoch noch eine quantitative Abschätzung versuchen. Rothlin[12] gibt folgende Zahlen für das Froschherz an: Oberfläche einer Herzmuskelzelle 1900 μ^2, Anzahl der Zellen in 1 g Froschherz $0{,}3 \cdot 10^9$.

Unsere isolierten Ventrikel (feucht) wogen 40—60 mg, enthielten also $0{,}015 \cdot 10^9 = 15 \cdot 10^6$ Zellen mit einer Gesamtoberfläche von $15 \cdot 10^6 \cdot 1900\ \mu^2 = 15 \cdot 1900\ \text{mm}^2 = 285\ \text{cm}^2 \cong 300\ \text{cm}^2$.

Nach Schmidt[13] beträgt die Dicke eines Proteinfilms auf einer Oberfläche 10 Å (bei Molekulargewicht 36000), aufgerollt 20 Å. Wird die Ausbreitung vorerst einmal flach angenommen und das spezifische Gewicht zu 1 gesetzt, dann beträgt das Gewicht der reagierenden Oberfläche $300 \cdot 10^{-7}$ g $= 0{,}030$ mg feucht.

Die Umsetzungen dieser Menge vergleichen wir mit einer gereinigten Pyrophosphatase aus Unterhefe von E. Bauer[14], die ein Optimum bei schwach saurer Reaktion besitzt.

Bauer[14] definiert mit einer Einheit diejenige Enzymmenge, die unter optimalen Bedingungen (bei ihm p_H 6,6 m/500 Mg, 1 mg Pyrophosphat-P/25 cm³ bei 30°) in 1 Stunde 100 γ o-Phosphat-P freilegt. Bei unserem Versuch waren nur 3,2 cm³ vorhanden. In der vergleichbaren Konzentration mußten also 128 γ vorhanden sein, was unserer m/1600 Lösung am nächsten käme. Laut Tabelle 1 werden dabei 55,8 γ freigesetzt, sind aber als ungünstig anzusehen, da schon fast die Hälfte des Substrats umgesetzt ist. Es sollen aber zur Phosphatasebestimmung wie bei Bauer der Umsatz nicht 10% des Substrats übersteigen. Wie in der Fußnote auf S. 360 hingewiesen, würde bei kürzerer Beobachtungszeit der Umsatz schon 80 γ betragen. Da bei dieser Menge aber schon 30% in der Beobachtungszeit umgesetzt sind, also die Phosphathemmung auch schon beträchtlich hineinspielt, kommen wir also auf mindestens eine Einheit Pyrophosphatase. Diese Einheit ist nach unserer vorigen Abschätzung enthalten in 30 γ Feuchtgewicht, in 1 mg also rund 30 Einheiten nach Bauer. Diese Aktivität hatte auch sein gereinigtes trockenes Präparat. Dabei ist jedoch folgendes zu beachten:

[12] Rothlin, E.: Schweiz. med. Wschr. **1944**, 217. — [13] Schmidt, C. L. A.: The Chemistry of the Amino Acids and Proteins, S. 432. Charles C. Thomas 1938. [14] Bauer, E.: Hoppe-Seylers Z. **248**, 213 (1937).

Seine Umsetzungen erfolgten bei 30° und bei optimalem p_H. Berücksichtigt man den Wassergehalt (vielleicht Multiplikation mit 4—5), die höhere Temperatur (Multiplikation mit 1,5), das nicht optimale p_H (vielleicht Multiplikation mit 2*), schließlich daß nicht alle hier gerechneten Oberflächen in voller Aktivität waren, wie die Steigerung der Aktivität bei höherem Druck zeigt (Steigerung um 30%), daß also unsere gemessene Aktivität die reichliche untere Grenze darstellt, dann ersieht man, einen wie großen Prozentsatz in der Oberfläche der Muskelfaser das Protein der Pyrophosphatase einnimmt. Wenn man die Phosphatase nicht ausgebreitet auf der Oberfläche der Zelle annimmt wie im Versuch in vitro, wird die Zahl auf die Hälfte, wenn das Protein ein größeres Molekulargewicht hat, entsprechend zu reduzieren sein. Wir wollen absichtlich keine genaue Zahl angeben, sondern nur deutlich machen, daß hiermit ein beträchtlicher Teil der Zelloberfläche definiert ist, soweit das Ferment seine Definition gefunden hat. Bei weiterer Reinigung der wirksamen Präparate wird man allmählich genauere Werte angeben können. Jedoch muß die Reinigung soweit vorgetrieben werden, daß die Fermentaktivität je Gewicht für die Zelloberfläche noch reichlichen Raum für andere Faktoren gibt, die Lokalisation der Aktivität auf einen kleineren Bruchteil reduziert. Vor allem ergibt sich eine besonders hohe Aktivität der Desmoform der Pyrophosphatase. Das wird darin seinen Grund finden, daß der Aktivator stets in günstigster Weise an das Protein gebunden ist. Als Aktivator ist Mg oder Mn anzunehmen, da das fluorierte Sulfonamid in der Lage ist, mit beiden Elementen komplexe Bindungen einzugehen (s. S. 655). Durch Vergleich mit unseren Befunden am Lyoferment ergibt sich, daß der Fermenthemmungskörper auf Desmoferment stärker wirkt. Wir haben bisher nicht die Beweise dafür, daß dieser Komplexbildner, so wie Histamin das Cu[15], das Mn aus der Oberfläche des Herzens herauslöst.

In einer vorhergehenden Arbeit[1] haben wir andere Bindungspunkte des Pyrophosphats an der Zelloberfläche dargelegt, hier folgt ein zweiter. Über die physiologische Bedeutung dieses Befundes können wir keine Aussagen machen. Die bei Dehnung auftretende Zunahme der Aktivität könnte man versuchen als ein Zeichen einer flüssigen Zellmembran aufzufassen. Dieser Annahme ist wegen der nicht leicht zu übersehenden mechanischen Verhältnisse der Zirkulation in den Gewebsspalten nicht genügend gesichert. Jedoch ist ersichtlich, daß die Vorstellung von Höber bzw. Mond und Netter,

* Manche alkalischen Phosphatasen haben eine viel steilere Charakteristik, wie z. B. die Knochenphosphatase von Martland u. Robison: Biochem. J. 21, 665 (1937).

[15] Eichler, O.: Naturw. (im Druck).

daß Eiweiß- und lipoide Phasen in der Zelloberfläche eingebaut sind, die für Erythrozyten bewiesen ist, sich auch an der Herzmuskelfaser bewährte.

Zusammenfassung.

In Versuchen an über 150 Froschherzen wird die Umsetzung von Pyrophosphat von der Oberfläche der Muskelfasern verfolgt.

Die Umsetzungen folgen den Gesetzen der Phosphatasewirksamkeit: Erhöhung durch die höhere angebotene Konzentration, Hemmung durch das entstehende Phosphat.

Sie folgen der Eigenschaft eines Desmoenzyms nach Bamann: Hemmung durch relativ niedere Konzentrationen von Magnesium. Die Aktivität nimmt nach der alkalischen Seite zu und wird gehemmt durch ein die alkalische Phosphatase hemmendes organisches Fluorid. Der Temperaturquotient Q_{10} beträgt bei m/800 Pyrophosphat etwa 1,5.

Die Pyrophosphatspaltung wird durch Änderungen der Frequenz von 4—50 Reize/Minute nicht modifiziert, wohl aber durch mäßige Steigerung des Druckes, weil damit neue Oberflächen des Herzens zugänglich werden. Durch sehr starke Steigerungen des Druckes nimmt infolge der schlechter werdenden Durchmischung die Aktivität wieder ab, ebenso wie bei der längerdauernden depressiven Phase bei höheren Konzentrationen (m/400). Nur indirekt besteht eine Beziehung der mechanischen Aktivität zur Umsetzung. Die freiwerdende Energie wird also mechanisch nicht genutzt.

In einer Überschlagsrechnung wird gezeigt, daß die Oberflächenschicht der Zellen eine vielfach höhere Aktivität besitzt als gereinigtes Ferment aus Hefezellen je Gewicht gerechnet. Also muß diese Oberfläche zu einem deutlichen Prozentsatz aus Fermentprotein bestehen.

Kleine Mengen einer Pyrophosphatase werden in die Kanülenflüssigkeit abgegeben, nachweisbar auch ohne Zusatz eines Aktivators.

Aus dem Pathologischen Institut (Ludwig-Aschoff-Haus) der Universität Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. F. Büchner).

Untersuchungen über die langfristige Einwirkung einer hochprozentigen Sauerstoffatmosphäre bei vermindertem Gesamtdruck.

Von

Hans Adolf Kühn und Josef Pichotka.

(Eingegangen am 15. Dezember 1947.)

Seit den Untersuchungen Paul Berts ist es bekannt, daß für den Eintritt der Sauerstoffvergiftung lediglich die Höhe der absoluten Sauerstoffspannung, der Sauerstoffpartialdruck, verantwortlich ist. Danach ist eine Vergiftung auch bei Atmung reinen Sauerstoffs in größeren Höhen nicht möglich, weil der vorhandene Gesamtdruck der Außenatmosphäre nicht mehr die Größe erreicht, die der Sauerstoff braucht, um toxisch wirken zu können (vgl. Becker-Freyseng und Clamann). In der neueren Literatur finden sich nun Hinweise, die die Bedeutung der anderen Komponenten der atmosphärischen Luft für die Erhaltung des Lebens dartun. Insbesondere die ausgedehnten Untersuchungen von Hershey gehen darauf hinaus, daß zum Leben außer dem notwendigen Sauerstoffdruck Stickstoff und Edelgase in bestimmter Menge vorhanden sein müssen. Die Möglichkeit, daß das Absinken des Stickstoffteildruckes bei der Sauerstoffatmung in großen Höhen von Bedeutung sein könne, ist auch von anderen Autoren geäußert worden (Benzinger).

Daraus ergab sich für uns die Frage, ob die bei den Experimenten mit hohem Sauerstoffpartialdruck beobachteten Veränderungen (Pichotka, Liebegott, Maréchaux, Kühn und Pichotka) ganz oder teilweise auf das Zurücktreten der anderen Komponenten der normalen Atemluft zu beziehen seien. Bei der prinzipiellen Wichtigkeit dieser Frage, aber auch wegen ihrer praktischen Bedeutung für die Sauerstoffatmung in großen Höhen und bei klinischer Indikation, hielten wir ihre experimentelle Untersuchung für angebracht.

Die einfachste Möglichkeit, dieses Problem anzugehen, schien uns in einer Versuchsanordnung gegeben, die bei unbedeutender Veränderung des Sauerstoffteildruckes eine starke Verminderung der übrigen Komponenten der normalen Luft bedingte. Wir versetzten

daher die Versuchstiere in einem etwa 90%igen Sauerstoff enthaltenden Atemgemisch unter einen Unterdruck entsprechend 9000 m absoluter Höhe. Der Sauerstoffpartialdruck betrug unter diesen Bedingungen etwa 200 mm Hg und war damit etwa ein Drittel höher als in der normalen Atmosphäre in Meereshöhe. Er lag aber weit unter der im allgemeinen für das Meerschweinchen als toxisch angesehenen Grenze, die nach Binet und Bochet oberhalb 60% einer Atmosphäre, d. h. oberhalb etwa 450 mm Hg liegt. Der Anteil des Stickstoffes und der Edelgase sank dabei unter Berücksichtigung der im Versuchsraum erhöhten Kohlensäurespannung auf etwa ein Dreißigstel des normalen (von 592 auf 19,5 mm Hg). Eine weitere Verminderung dieser Gase war aus technischen Gründen wegen des damit verbundenen sehr großen Sauerstoffverbrauches nicht möglich.

Ähnliche Experimente sind von Becker-Freyseng und Clamann — allerdings mit kürzerer Versuchszeit (70 Stunden) — im Selbstversuch durchgeführt worden. Die Versuchspersonen befanden sich dabei in einer auf 82% Sauerstoff angereicherten Atmosphäre bei einem Unterdruck entsprechen 9000 m Höhe. Der Sauerstoffpartialdruck entsprach also trotz des hohen Prozentgehaltes der Norm, d. h. dem der Normalatmosphäre bei 760 mm Gesamtdruck. Irgendwelche Störungen wurden bei diesen Versuchen nicht beobachtet.

Danach ist es nicht sehr wahrscheinlich, daß unter solchen Versuchsbedingungen morphologische Veränderungen zur Ausbildung gelangen. Andererseits waren diese Versuche zu kurzfristig, um wirklich bindende Aussagen über dabei mögliche Schädigungen machen zu können. Deshalb hielten wir Tierversuche mit erheblich längerer Versuchszeit unter besonderer Berücksichtigung eventuell auftretender morphologischer Veränderungen für erforderlich.

Versuchsanordnung.

Die Versuche wurden mit 4 Meerschweinchen in einer Unterdruckkammer von etwa 150 Liter Inhalt durchgeführt. Der Flaschensauerstoff wurde durch wassergefüllte Vorlagen in einen Sparbeutel geleitet, der unmittelbar vor der Kammer lag, und aus dem die Pumpe den Sauerstoff in die Kammer absaugte. Die notwendige Sauerstoffzufuhr war nach der Spannung des Sparbeutels leicht zu regulieren. Durch einen leichten Überdruck im Beutel wurde verhindert, daß an Undichtigkeitsstellen in der Leitung Außenluft in das System eintrat. Zwischen Sparbeutel und Unterdruckkammer befand sich ein Ventil zur Regelung des Sauerstoffeinstromes in die Kammer und damit zur Einhaltung der gewünschten Versuchshöhe. Zur Evakuierung diente eine Pfeiffer-Öldruckpumpe. Die zur Analyse notwendigen Proben wurden der ausströmenden Luft zwischen Pumpe und Kammer entnommen. Zu diesem Zweck wurde parallel zur Pumpenleitung ein allseitig durch Hahnen verschließbares Gefäß geschaltet. Vor der Entnahme der Analysenprobe wurde der gesamte Luftstrom längere Zeit durch dieses Gefäß geleitet. Dann wurde es von der Pumpenleitung abgesperrt, und die darin enthaltene Luft durch Zuführung entgasten Wassers auf Normaldruck gebracht. Die Analysen wurden mit dem Gasanalysenapparat nach Haldane-Henderson ausgeführt.

Versuchsverlauf.

Bei Beginn des Versuches und beim jedesmaligen Wiedereinschleußen evakuierten wir unter fortwährendem Zuschuß von Sauerstoff mehrfach auf 4—5000 m und ließen dann wieder Sauerstoff bis auf Normaldruck nachströmen, um eine möglichst schnelle Anreicherung bis zur gewünschten Konzentration zu erzielen.

Während des Versuches wurden die Tiere alle 1—2 Tage für einige Stunden in normale Atmosphäre gebracht, um sie mit frischem Futter zu versehen und ihnen genügend Zeit zum Fressen zu geben, da ihre Freßlust unter den Versuchsbedingungen offensichtlich abnahm. Außerdem waren wir einige Male aus technischen Gründen zur Unterbrechung des Versuches gezwungen. Da wir keine Kreislaufentlüftungsanlage zur Verfügung hatten, mußte bei unserer Versuchsanordnung die Pumpe während der ganzen Zeit unter hoher Leistung laufen. Der passierende Sauerstoff brachte das Pumpenöl zur Verharzung und machte einen mehrmaligen Ölwechsel erforderlich. Einmal wurde durch einen technischen Fehler die Sauerstoffzufuhr unterbunden (9. Versuchstag). Das Versagen wurde erst bemerkt, als die Tiere Symptome beginnender Höhenkrankheit zeigten. Die Analyse für den Tiefpunkt der Sauerstoffspannung bei diesem Vorgang ergab 21% Sauerstoff bei 9000 m, also eine dieser Höhe entsprechende Normalatmosphäre, die allerdings nur ganz kurze Zeit geherrscht haben kann. Bemerkenswert waren die Erscheinungen von Höhenkrankheit, die bei Meerschweinchen in sonst gleicher Versuchsanordnung im allgemeinen erst bei größerer Höhe einzutreten pflegen. Sofort nach Beginn der gleich eingeleiteten Sauerstoffzuführung verschwanden diese Erscheinungen, und die Tiere fühlten sich anscheinend wieder wohl. Nach 264 Stunden mußte der Versuch abgebrochen werden, weil die Anlage einer weiteren Belastung nicht gewachsen war.

Wegen dieser technischen Mängel der Versuchsanordnung sind die Versuchsbedingungen nicht ganz übersichtlich. Die Ergebnisse sind aber unseres Erachtens doch geeignet, auf die eingangs erwähnte Fragestellung eine Antwort zu geben.

Die Gesamtdauer des Versuches betrug 264 Stunden. Die höchste erreichte Höhe war 10000 m, durchschnittlich lag die Versuchshöhe um 9000 m. Die Sauerstoffspannung lag im Mittel um 90% entsprechend 207 mm Hg, die Kohlensäurekonzentration im allgemeinen um 1,5%. Die Temperaturen im Versuchsraum schwankten zwischen 20 und 25° C.

Das klinische Verhalten der Tiere war gegenüber dem unter normalem Gesamtdruck sauerstoffvergifteter Tiere (Clamann und Becker-Freyseng, Pichotka, Pichotka und Kühn) wenig eindrucksvoll. Es fanden sich lediglich geringe Schwankungen in der Atemfrequenz und bei allen Tieren ein geringer Gewichtsverlust. Auffällig war das zeitweise starke Jucken und Kratzen der Tiere, wobei man manchmal durchaus den Eindruck von Parästhesien hatte. Bei einem Tier sahen wir vorübergehend ein stundenlang anhaltendes seitliches Verdrehen des Kopfes und eine spastische Bewegungseinschränkung der Hinterbeine. An Pfoten und Ohren gelangte eine eigentümliche zyanotische Verfärbung zur Beobachtung.

Nach Herausnahme der Tiere aus der Kammer waren keinerlei Besonderheiten zu bemerken. Die Verfärbung der Ohren und Pfoten verschwand während des langsamen Abschleusens.

Nach Abbruch des Versuches wurden 3 Tiere getötet (1—3). Eines (4) blieb am Leben zur Kontrolle etwa eingetretener Veränderungen, die erst unter den Bedingungen der Normalatmosphäre manifest würden.

Dieses überlebende Tier nahm in den Tagen nach dem Versuch fortlaufend an Gewicht ab und machte einen kranken Eindruck. Elf Tage nach dem Versuch

wurde es struppig und bewegte sich nicht mehr normal. Die Vorderfüße erschienen ataktisch. Das Tier lief zeitweise ruhelos umher, fraß dabei eifrig. Hin und wieder saß es ruhig, wobei die Atmung plötzlich angestrengt wurde. Das In- und Expirium war deutlich hörbar und nahm pfeifenden Charakter an, wie beim Asthma. Dabei hatte das Tier den Kopf erhoben oder stand an der Wand aufrecht. Am 13. Tag nach dem Versuch häuften sich diese Anfälle. Am folgenden Tag wurde es tot im Stall gefunden. Anfangsgewicht 315 g, Endgewicht 205 g.

Morphologische Befunde.

I. Sektionsbefund. Der Sektionsbefund bei den 3 Tieren, die nach Versuchsende getötet wurden, war vollkommen einheitlich und kann daher in Zusammenfassung wiedergegeben werden.

Bei Eröffnung des Brustkorbes erweisen sich die Pleurahöhlen beiderseits als frei und ohne Ergüsse. Pleura überall glatt und spiegelnd. Lungen zurückgesunken. Oberfläche glatt, schwach gelb und rotbraun gefleckt. Das noch lebhaft schlagende Herz ist stark blutgefüllt, die Organe der Bauchhöhle bieten makroskopisch keine Besonderheiten.

Sektionsbefund Tier 4. Das Tier ist sehr struppig und mager. In der Bauchhöhle keine Besonderheiten. Leber und Nieren tief rot gestaut, Gallenblase stark gefüllt, Milz unverändert. In der Pleurahöhle kein Erguß. Die Lungen füllen den Brustraum völlig aus. Auf der Oberfläche neben zahlreichen Blutpunkten opake Herde, außerdem Emphysembläschen unter der Pleura. Beim Anfassen und Schneiden knistert die Lunge. Trachea und große Bronchien ohne Inhalt, ihre Schleimhaut von gleichmäßiger Blässe. Rechtes Herz stark mit Blut gefüllt, linke Kammer kontrahiert und leer.

II. Histologische Befunde. Lunge: Bei den Tieren 1—3 findet sich im wesentlichen das gleiche Bild, so daß die Befunde im Zusammenhang besprochen werden können. Bei allen 3 Tieren in einzelnen Abschnitten der untersuchten Lungenstücke starke Blähung der Alveolen, daneben atelektatische Bezirke, innerhalb derer die Alveolardeckzellen ihre kubische Form wieder angenommen haben und sich zum Teil in adenomartiger Wucherung befinden. Die perivaskulär und peribronchial gelegenen lymphatischen Strukturen sind bei allen 3 Tieren auffallend stark ausgebildet. In einzelnen Abschnitten reichlich eosinophile Leukozyten in den Blutgefäßen. In den sonst unveränderten Alveolen hier und da etwas seröses Exsudat, an einigen Stellen in geringer Menge abgeschilferte Alveolarepithelien. Einzelne Alveolen enthalten Erythrozyten.

Die Begrenzung der Alveolen, der Alveolargänge und der Bronchioli respiratori lassen keine Veränderungen erkennen. Insbesondere finden sich nirgends hyaline Bandbildungen, wie sie von der tödlichen Sauerstoffvergiftung unter Normaldruck her bekannt sind (Pichotka, Liebegott u. a.). In den kleineren und größeren Bronchien hin und wieder seröses Exsudat, untermischt mit einzelnen abgestoßenen Epithelien und Rundzellen.

Die Lunge des Versuchstieres 4 bietet ein anderes Bild: In den Schnitten aus allen Teilen der Lunge findet eine hochgradige Blähung der Alveolen, stellenweise auch das Bild eines Emphysems mit Zerreißung der starkgedehnten Alveolarsepten. An einigen Stellen sind die Alveolen mit einem homogenen, teils feinfädigen fibrinnegativen Exsudat angefüllt, an anderen Stellen enthalten sie reichlich Erythrozyten. Besonders auffallend ist die hochgradige Hyperämie der Lunge, kenntlich an der strotzenden Füllung der Kapillaren und der Lungenvenen. Das Lumen der Bronchiolen und der Bronchien, auch der größeren, ist mit Mengen abgestoßener Epithelien angefüllt. Die Ausbildung der lymphatischen Strukturen ist bei diesem Tier nicht so mächtig wie bei den anderen.

Leber: Bei den Tieren 1—3 ist die Leber vollkommen fettfrei bei reichlichem Glykogengehalt. Gleichmäßig trübe Schwellung aller Zellen innerhalb eines Leberläppchens. Sowohl in der Peripherie wie im Läppchenzentrum wenige einzelstehende Vakuolen in den Leberzellen.

Bei Tier 4 ist die Leber fast völlig glykogenfrei. Auch Fett ist in den Leberzellen nicht zu beobachten, dagegen einzelne größere fettfreie Vakuolen in den Leberzellen des Läppchenzentrums.

Herzmuskel: Bei Tier 1—3 am Herzen keine Veränderung. Bei Tier 4 in geringer Ausdehnung eine Fragmentation der äußeren Muskelschale des linken Ventrikels.

Niere: Tubulusepithelien fettfrei, etwas trübe geschwollen. Bei Tier 4 auffallend schmale Rinde ohne sonstigen pathologischen Befund.

Besprechung der Befunde.

Bei der Betrachtung der *klinischen Symptome* muß zunächst herausgestellt werden, daß in der 90%igen Sauerstoffatmosphäre bei 9000 m Höhe keine Schädigungen auftraten, die denen in gleichem Gemisch bei Normaldruck vergleichbar wären. Während bei dem Aufenthalt in einer Atmosphäre mit gleicher prozentualer Beteiligung des Sauerstoffes unter Normaldruck der Tod von Meerschweinchen in durchschnittlich 3 Tagen eintritt, waren beim Abbruch unseres Versuches nach 12 Tagen klinisch keine Veränderungen erkennbar, die irgendwie auf einen tödlichen Ausgang hingewiesen hätten. Diese Beobachtungen stimmen also völlig mit denen von Becker-Freyseng und Clamann bei ihrem eingangs erwähnten Selbstversuch überein. Daraus ergibt sich eindeutig, daß für den Ablauf der Sauerstoffvergiftung allein die Erhöhung des Sauerstoffteildruckes entscheidend ist, wie es bereits P. Bert nach dem Ergebnis seiner klassischen Experimente angenommen hatte, und der Verminderung der anderen Komponenten des atmosphärischen Gemisches (Stickstoff und Edelgase) keine praktische Bedeutung zukommt. Die Angabe von Binet und Bochet, daß für Meerschweinchen erst eine Sauerstoffspannung oberhalb 60% einer Atmosphäre toxisch sei, erfährt für den Bereich der Sauerstoffspannung in unserem Versuch eine Bestätigung.

Andererseits ist zu betonen, daß die Tiere den Versuch nicht ganz unbeschadet überstanden haben. Die klinischen Symptome waren zwar nicht unmittelbar lebensbedrohend, aber doch sicher als pathologische Erscheinungen anzusehen.

Es liegt nahe, die auffälligen Juck- und Kratzbewegungen mit den Parästhesien in Zusammenhang zu bringen, die von Clamann und Becker-Freyseng bei ihren Selbstversuchen unter hoher Sauerstoffspannung bei Gleichdruck beschrieben worden sind. Bei der Sauerstoffvergiftung im Überdruck gehörten die Kratzbewegungen bei unseren Versuchstieren zum ständigen Bild und riefen deutlich den Eindruck schwerer Mißempfindungen an der Haut hervor (Pichotka

und Kühn). Die eigentümliche Schiefhaltung des Kopfes und die vorübergehende Lähmung der Hinterbeine bei einem Tier finden ihr Gegenstück in den schweren Labyrinthstörungen und motorischen Lähmungen bei der Sauerstoffvergiftung im Überdruck. Dabei ist besonders zu bemerken, daß diese Erscheinungen zu einer Zeit eintraten, als die Versuchsapparatur noch voll intakt war, so daß diese Symptome nicht durch Versuchszwischenfälle bedingt sein können.

Während alle anderen Erscheinungen in dieser Versuchsgruppe Parallelbilder bei anderen Formen der Sauerstoffvergiftung finden, ist die bei den Tieren im Versuchsraum beobachtete Zyanose, die beim Ausschleusen wieder verschwand, nur schwer zu erklären. Bei dem in der Kammer herrschenden Sauerstoffdruck ist eine mangelnde Sauerstoffsättigung des Hämoglobins sehr unwahrscheinlich. Ob Umstellungen des Kreislaufes für dieses Phänomen verantwortlich zu machen sind, muß dahingestellt bleiben. Immerhin ist in diesem Zusammenhang daran zu denken, daß Tiere, die die Sauerstoffvergiftung im Überdruck überlebten, fast regelmäßig Nekrosen der Akren bekamen, denen eine Zyanose vorausging (Pichotka und Kühn).

Zusammengefaßt ist festzustellen, daß die spärlichen klinischen Symptome dieser Versuchsreihe in mancher Beziehung Ähnlichkeit mit denen der Sauerstoffvergiftung im Überdruck haben, so daß an einen Zusammenhang zu denken ist. Die wenn auch geringe Erhöhung des Sauerstoffpartialdruckes könnte bei der langfristigen Einwirkung im Sinne einer leichten Sauerstoffvergiftung von Bedeutung gewesen sein.

An die Möglichkeit einer Spätschädigung durch den Versuchsverlauf lassen die bei dem überlebenden Tier (4) beobachteten Erscheinungen denken. Den eigenartigen Zustand von Atemnot, wie wir ihn bei diesem Tier vorfanden, sahen wir nirgend für das Meerschweinchen beschrieben. Ähnliche Bilder waren uns in allerdings schnellerem Verlauf nur bei Tieren begegnet, die die Belastung mit hohem Sauerstoffüberdruck (bis 5 ata O_2) einige Zeit überlebt hatten (Pichotka und Kühn). Die vorwiegend expiratorische Dyspnoe forderte manchmal fast zu Vergleichen mit dem Bild des menschlichen Bronchialasthmas auf.

Von den *histologischen Befunden* verdient bei den *Lungen* die Tatsache hervorgehoben zu werden, daß Bilder, wie wir sie von der Sauerstoffvergiftung bei Gleichdruck zu sehen gewohnt sind, also hyaline Bandbildungen an den Alveolar- und Kapillarwänden und Nekrosen an den Epithelien der zuführenden Luftwege, bei keinem Tier beobachtet werden konnten. Intraalveoläre Exsudate fibrinöser oder leukozytärer Art wurden ebenfalls bei keinem Tier gesehen. Nur ganz vereinzelt fand sich etwas seröses Exsudat in den Alveolen.

Die lymphatischen Strukturen waren bei allen Tieren auffallend stark ausgebildet. Dies kann, wie bei anderer Gelegenheit hervorgehoben, als Ausdruck einer unspezifischen Reizwirkung auf das Lungengewebe angesehen werden. Im gleichen Sinne spricht auch der Befund von serösem Exsudat in den Bronchien und das Auftreten von Rundzellen und abgestoßenen Epithelien in der Bronchiallichtung, sowie die Abschilferung von Alveolarepithelien.

Besonders verdient noch die bei allen Tieren beobachtete starke Füllung der Lungenkapillaren hervorgehoben zu werden. Dagegen ist der Befund von Blut in den Alveolen bei den Tieren 1—3 auf die Tötung zu beziehen und steht in keinem Zusammenhang mit unserer Versuchsanordnung.

Betrachten wir diese Befunde im Zusammenhang, so können wir sagen, daß außer den Zeichen eines allgemeinen Reizzustandes am Lungengewebe und am Bronchialsystem Anzeichen einer stärkeren Schädigung nicht beobachtet werden konnten. Lediglich die bei dem überlebenden und später unter asthmaähnlichen Zeichen verendeten Tier (4) beobachteten Veränderungen gehen mit Sicherheit über den Rahmen physiologischer Bilder hinaus. Dabei ist zunächst festzustellen, daß der Befund einer entzündlichen Erkrankung der Bronchien oder der Lunge, worauf sich nach dem klinischen Verhalten der Verdacht richtete, bei diesem Tier nicht erhoben werden konnte. In keinem der untersuchten Lungenstücke fanden sich entzündliche Veränderungen, vielmehr wurde das histologische Bild von der Stauung mit Blutaustritten in die Alveolen und dem Emphysem beherrscht. Es ergibt sich die Frage, ob wir es hier wirklich mit Spätschäden als Folge der Versuchsbedingungen zu tun haben. Ein gröberes Hindernis in den zuführenden Luftwegen, was nach dem klinischen Verhalten und dem histologischen Bild erhoben werden mußte, konnte bei der Sektion nicht aufgedeckt werden. Insbesondere fand sich kein Glottisödem, eine stärkere Bronchitis ließ sich ebenfalls ausschließen. Dagegen ergab die bakteriologische Untersuchung der Lungen bei diesem Tier Staphylococcus aureus im Gegensatz zu den anderen Tieren, deren Lungen entweder steril waren, oder nur Staphylococcus albus enthielten, eine Beobachtung, die wohl im Sinne einer Resistenzminderung infolge des schlechten Allgemeinzustandes des Tieres gedeutet werden muß. Wir müssen die Erklärung des klinischen Bildes und des histologischen Lungenbefundes bei diesem Tier (4) also offen lassen. Da es sich um einen Einzelbefund handelte, können ohnehin weitgehende Schlüsse daraus nicht gezogen werden, doch schien uns das Bild erwähnenswert, da wir bei unseren ausgedehnten Versuchen über die Sauerstoffvergiftung niemals ein ähnliches Bild beim Meerschweinchen beobachtet haben.

Die bei den Tieren 1—3 beobachteten unspezifischen Lungenveränderungen sind aller Wahrscheinlichkeit nach auf die unphysiologischen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen im Versuchsraum zu beziehen, erst in zweiter Linie ist daran zu denken, daß sie, wie auch die klinischen Symptome, mit der geringen, aber langdauernden Erhöhung des Sauerstoffteildruckes im Zusammenhang stehen.

Die beobachteten *Leberveränderungen* sind zu uncharakteristisch, als daß sie mit dem Versuchsverlauf in Beziehung gesetzt werden könnten.

Zusammenfassung.

1. In einer auf 90% angereicherten Sauerstoffatmosphäre auf einer Versuchshöhe von 9000 m (Sauerstoffteildruck etwa 200 mm Hg) waren am Ende des zwölften Versuchstages bei 4 Meerschweinchen keine bedrohlichen klinischen Erscheinungen eingetreten, während Meerschweinchen in dem gleichen Gemisch bei normalem Gesamtdruck im allgemeinen in etwa 3 Tagen zugrunde gehen.

2. Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, daß die Verminderung der übrigen Komponenten der Atmosphäre (Stickstoff und Edelgase) keine wesentliche Bedeutung haben kann, daß die klinischen und morphologischen Veränderungen bei der Sauerstoffvergiftung vielmehr allein der Erhöhung des Sauerstoffpartialdruckes zur Last gelegt werden müssen.

3. Leichte Veränderungen im Verhalten der Versuchstiere werden als Ausdruck einer geringfügigen Sauerstoffvergiftung gedeutet.

4. Der 14 Tage nach Abbruch des Versuches erfolgte Tod eines überlebenden Tieres konnte ätiologisch nicht geklärt und insbesondere mit den Versuchsbedingungen in keinen sicheren Zusammenhang gebracht werden.

Literatur.

Becker-Freyseng, H. u. H. G. Clamann: Luftf.med. **7**, 272 (1943). — Bert, P.: La pression barométrique. Paris 1878. — Benzinger, Th.: Naturw. **1940**, 209. — Binet, L. et M. Bochet: Presse méd. **1938**, 944. — Clamann, H. G. u. H. Becker-Freyseng: Luftf.med. **4**, 1 (1940). — Hershey: Science (N. Y.) **1930 I**, 394. — Kühn, H. A. v. J. Pichotka: Erscheint im Arch. exper. Path. (D.). — Liebegott, G.: Beitr. path. Anat. **105**, 413 (1941). — Maréchaux, E. W.: Arch. exper. Path. (D.) **201**, 213 (1943). — Pichotka, J.: Beitr. path. Anat. **107**, 117 (1942). — Pichotka, J. u. H. A. Kühn: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 336 (1947).

Aus dem Pathologischen Institut (Ludwig-Aschoff-Haus) der Universität Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. F. Büchner).

Über die Morphogenese der Lungenveränderungen bei der Sauerstoffvergiftung.

Von

Hans Adolf Kühn und Josef Pichotka.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Dezember 1947.)

Über die Veränderungen der Lunge unter der Einwirkung hoher Sauerstoffkonzentrationen sind seit der Jahrhundertwende zahlreiche Untersuchungen durchgeführt worden. Ihr Ergebnis war die Feststellung einer sero-fibrinösen Bronchopneumonie mit geringen leukozytären Beimengungen, die als abakterielle Reizungspneumonie gedeutet wurde (Karsner u. a.). Unter dem Eindruck der zunehmenden Verwendung des hochgespannten Sauerstoffs in Medizin und Technik wurde die Frage nach der Schädigungsmöglichkeit durch denselben Gegenstand erneuter Untersuchungen. In zwei morphologischen Arbeiten zu dieser Frage (Pichotka, Liebegott) wurden neben den bereits bekannten Elementen des histologischen Bildes Veränderungen gefunden, die als typisch für die Wirkung hochgespannten Sauerstoffs angesehen wurden. Es handelt sich um das Auftreten bandförmiger homogener, stark eosinfärbbarer Strukturen an den Wänden der Alveolen und Alveolargänge, die wegen ihrer besonderen färberischen und gestaltlichen Eigenschaften als hyaline Quellungsnekrosen der Alveolarwand angesprochen und als Ursache der klinisch in Erscheinung tretenden Diffusionshemmung in der Lunge, der „Pneumonose", gedeutet wurden.

Gleich hyaline Bandbildungen in der Lunge hatte Aschoff bei der Phosgenvergiftung gefunden und als Ätznekrose der Alveolarwand angesehen. Er hatte damit offenbar angenommen, daß diese Bilder durch die Nekrose wandständigen Materials hervorgerufen würden. In mehreren späteren Arbeiten, die sich mit ähnlichen Veränderungen anderer Ursache beschäftigen, ist dagegen die Ansicht vertreten worden, daß es sich bei diesen Gebilden um die Auflagerung im Alveolarraum gelegenen Materials handele (Farber und Wilson, Steinharter u. a.). Für die Veränderungen bei der Sauerstoffvergiftung hat Maréchaux nach experimenteller Bestätigung der Befunde eine ähnliche Genese in Erwägung gezogen.

Tabelle 1. *Übersicht*

Versuchsgruppe	Zahl und Art der Tiere	Sauerstoff %	Sauerstoff ata	Versuchszeit unter O_2	Überlebenszeit an Normalluft	Todes- bzw. Tötungsart
I	6 Meerschweinchen	90—98	—	60—87 Std.	—	Spontantod unter O_2
II	4 Meerschweinchen	90—98	—	65—75 Std.	—	Tötung durch Nackenschlag
III	8 Meerschweinchen 5 Kaninchen	90—98	—	66—122 Std.	Einige Sek. bis Min.	Spontantod nach Versetzen an Außenluft
IV	15 Meerschweinchen 3 Kaninchen	—	3,5—5,8	63—415 Min.	—	Spontantod unter O_2
V	2 Meerschweinchen	—	4—5	305—370 Min.	1 Tier 23 Min.	Tötung durch Dekapitation
VI	3 Meerschweinchen 1 Kaninchen	—	3,5—5	95—285 Min.	5 Min. bis 2 Tage	Spontantod nach Versetzen an Außenluft

Wir haben nun bei der Durchführung experimenteller und histologischer Untersuchungen über die Angriffs- und Wirkungsweise des Sauerstoffs bei den verschiedenen Formen der Sauerstoffvergiftung den morphologischen Veränderungen der Lunge erneut unsere Aufmerksamkeit zugewandt. Bei der Durchsicht der Lungen einiger Versuchstiere, die unter einem Sauerstoffüberdruck von mehreren Atmosphären gehalten worden waren, fielen uns eigentümliche Veränderungen der Kapillaren und ihrer Wandungen auf, die Beziehungen zu den in Frage stehenden hyalinen Strukturen an den Wandungen der Alveolen und Alveolargänge in den Lungen sauerstoffvergifteter Tiere nahe legten.

Wir haben daraufhin an unserem gesamten Versuchsgut die Lungen unter dem besonderen Gesichtspunkt untersucht, die Morphogenese

des Versuchsgutes.

Besondere Vermerke	Kennzeichnende Veränderungen im histologischen Bild	Form der Sauerstoffvergiftung
Tod unter den Zeichen der Asphyxie Lungenödem	Vorwiegend seröses Exsudat, bei den Tieren mit längerer Versuchszeit auch Fibrin und Leukozyten. Erweiterung und Hyperämie der Kapillaren. Hyaline Bandbildungen, vorwiegend an den vorspringenden Septenkuppen, bei Tieren mit längerer Versuchszeit auch in stärkerer Ausdehnung	*Subakute Sauerstoffvergiftung* (erhöhter Sauerstoffpartialdruck bei normalem Gesamtdruck)
Tötung im Zustand schwerer Dyspnoe	Wie I. Hyaline Bandbildungen nur in geringer Ausdehnung an den Septenkuppen. Bei dem früh getöteten Tier (65 Std.) vorwiegend seröses Exsudat	
Lungenödem, Kollaps	Wie I. Im Alveolarexsudat reichlich Fibrin und Leukozyten. Breite und ausgedehnte hyaline Bandbildungen, übergreifend auf Alveolargänge und Bronchioli resp. Nekrosen am Epithel der Bronchioli	
Tod zum Teil unter Krämpfen. Terminale Schnappatmung	Vorwiegend seröses Exsudat, Abschilferung von Alveolarepithelien, Blutaustritte in die Alveolen. Hochgradige Erweiterung und Blutfüllung der Kapillaren. Beginnende Verdickung der Kapillarwände an den vorspringenden Septenkuppen und beginnende Homogenisierung ganzer Kapillaren mit ihrem Inhalt	*Akute Sauerstoffvergiftung* (Sauerstoffüberdruck) (3,5—5,8ata O_2)
—	Wie IV. Bei dem nach 23 Min. getöteten Tier nur kapilläre Hyperämie	
Nach symptomenfreiem Intervall zunehmende Entwicklung von Lungenödem	Wie IV. Außerdem Hyalinisierung ganzer Kapillaren mit ihrem Inhalt. Übergangsstufen zu typischen hyalinen Membranen, vorwiegend an den Septenkuppen. Anschichtung von Exsudat an die homogenisierten Kapillaren. Epithelnekrosen an den Bronchiolen	

dieser hyalinen Strukturen zu klären. Dabei ergab sich, daß sämtliche bei der Sauerstoffvergiftung vorkommenden Lungenveränderungen einschließlich der strittigen hyalinen Bandbildungen an den Alveolarwänden eine einheitliche pathogenetische Reihe darstellen.

Die in dieser Arbeit dargestellten Befunde sind somit nur ein Teilergebnis im Rahmen unserer Gesamtuntersuchungen (vgl. PICHOTKA und KÜHN). Dieser Umstand erklärt die Tatsache, daß einige andere im Verlauf der Untersuchungen auftauchende grundsätzliche Fragen nicht in erschöpfender Weise behandelt werden konnten.

Versuchsgut und Bearbeitung.

Die Untersuchungen wurden an 38 Meerschweinchen und 9 Kaninchen vorgenommen. Eine kurze Übersicht über das Versuchsgut findet sich in Tabelle 1.

Um die zu den bereits ausführlich beschriebenen Endstadien der hyalinen Bandbildungen gehörigen Frühveränderungen in die Hand zu bekommen, wurden möglichst kurze Versuchszeiten angestrebt. Bei der Vergiftung in einer Atmosphäre mit etwa auf 90% erhöhtem Sauerstoffpartialdruck betragen die Versuchszeiten bis zum Tode für Meerschweinchen 70—100 Stunden. Durch Steigerung der Sauerstoffspannung auf 3,5—5,7 ata gelingt es, die Versuchszeit bis zum Eintritt des Todes auf wenige Stunden herabzudrücken. Von besonderer Bedeutung für die Klärung der vorstehenden Frage waren die Lungenveränderungen von Tieren, die nach mehrstündigem Aufenthalt unter hochgespanntem Sauerstoff an die Normalatmosphäre zurückversetzt, nach anfänglicher Erholung im Abstand von mehreren Stunden unter dem Bilde des zunehmenden Lungenödems zu Tode kamen (Gruppe VI der Tabelle). Die Dekompression wurde bei den meisten Tieren so langsam vorgenommen, daß die Gefahr eines Freiwerdens gasförmigen Sauerstoffs mit Sicherheit ausgeschlossen werden konnte (10 bis 20 Min.). Ein Freiwerden anderer Gase, etwa von Stickstoff, kann in unserer Versuchsanordnung beim Ausschleusen nicht eintreten, da in der Atmungsluft andere Gase praktisch nur in Spuren vorhanden sind. Sollte wirklich bei zu schneller Dekompression einmal Sauerstoff in gasförmiger Form im Gewebe frei werden, so kann das nach den Erfahrungen mit intravenöser Injektion von Sauerstoff bei der außerordentlich schnellen Resorption keine wesentlichen Folgen haben. Für die in Frage stehenden Lungenveränderungen dürften im übrigen eventuell eintretende Druckfallwirkungen ohne Bedeutung sein. Eine ausführliche Beschreibung der Versuchsführung und der klinischen Ergebnisse findet sich an anderer Stelle (Pichotka und Kühn).

Die Tiere wurden unmittelbar nach eingetretenem Tod seziert, mit Ausnahme einiger weniger, deren Tod nicht beobachtet werden konnte. Bei diesen liegen Höchstzeiten bis zu einigen Stunden zwischen Tod und Sektion. Die Organe wurden immer in Susa und Formol, zum Teil auch in Carnoy und Bouin fixiert und in Paraffin eingebettet. Von sämtlichen Versuchstieren wurden Paraffinschnitte der Lungen mit Hämatoxylin-Eosin, Elastica, Weigertscher Fibrinfärbung, Azan und nach van Gieson und Mallory gefärbt. Von einigen Tieren wurden außerdem Paraffinschnitte mit Mucikarmin und nach Turnbull, Gefrierschnitte mit H.S. behandelt.

Die Lungen der Tiere, die nicht akut unter hohem Sauerstoffüberdruck zu Tode kommen, wurden im Ausstrich und kulturell auf Erreger untersucht. Die Ergebnisse sind in den oben erwähnten Arbeiten dargestellt. Danach spielt eine Sekundärinfektion für das Zustandekommen der Lungenveränderungen keine Rolle.

Die Befunde.

1. Sektionsbefunde. Der Sektionsbefund zeigte bei den Tieren auch verschiedener Versuchszeiten ein ziemlich einheitliches Bild.

Die *Lungen* waren stets erheblich vergrößert, häufig auf das doppelte ihres gewöhnlichen Volumens, so daß der Brustraum nach der Eröffnung meist vollkommen mit der Lunge ausgefüllt war. Die Konsistenz der Lungen war deutlich erhöht und prall elastisch, Oberflächen und Schnittflächen unregelmäßig gefleckt, bräunlich gelb bis tief dunkelrot. Schnittfläche im ganzen sehr blutreich. In allen Lungenabschnitten, meist auch in der Trachea, reichlich schaumige Flüssigkeit. Das *Herz* war in allen 4 Höhlen dilatiert und mit Blut gefüllt, *Leber* und *Nieren* dunkelrot gestaut. In den *Nebennieren* waren einige Male Rindenblutungen zu beobachten. An den übrigen Organen kein pathologischer Befund.

2. Histologische Befunde. Als beständige Veränderung fand sich in den Lungen aller im Versuch gestorbenen Tiere eine starke *Blutfülle der Gefäße*, vor allem

der Kapillaren. In einigen schnell zum Tode führenden Versuchen (Versuchszeit um 100 Min.) unter hohem Sauerstoffdruck war dies praktisch der einzige pathologische Befund. Die starke Füllung des Gefäßsystems war nicht gleichmäßig über die ganze Lunge verteilt, es zeigten sich vielmehr Unterschiede nach dem Entfaltungszustand. In stark geblähten Bezirken wurden die eröffneten Kapillaren erst bei stärkerer Vergrößerung sichtbar, in schwächer entfalteten oder fast atelektatischen Bezirken bildeten die stark erweiterten, geschlängelten und strotzend gefüllten Kapillaren dagegen dichte Konvolute, in denen kaum ein anderes Strukturelement aufzufinden war. Die kleinen Gefäße waren ebenfalls stark erweitert und prall blutgefüllt. Diese Hyperämie fand sich nicht nur bei spontan gestorbenen, sondern auch bei einigen vor dem Spontantod getöteten Tieren (Gruppe II und V).

Bei den meisten Tieren mit Ausnahme derjenigen, die neben der starken Füllung des Gefäßsystems keine Veränderungen zeigten, fand sich verschiedenartiger Inhalt in den Alveolen, bei den akut in kurzer Frist zu Tode gekommenen Tieren meistens *seröses Exsudat* in unterschiedlicher Ausdehnung, *Dequamation von Alveolarepithelien* und wechselnder Gehalt der Alveolen an *Erythrozyten*.

Diese drei Bestandteile des Alveolarinhaltes müssen ungefähr dem gleichen Schädigungsgrad entsprechen. Selten fanden sich kleine Blutungen in die Alveolen ohne seröses Exsudat in gleichen oder anderen Gebieten, meistens fanden sich alle diese drei Veränderungen nebeneinander. Das seröse Exsudat nahm im allgemeinen mit der Versuchsdauer an Dichte und Ausdehnung zu und erreichte bei längerer Versuchsdauer oft ein großes Ausmaß.

Die Erythrozyten hatten in Alveolen und Kapillaren ihre Färbbarkeit manchmal weitgehend eingebüßt. In manchen Fällen waren sie nur mehr als schwache Schatten erkennbar, stellenweise innerhalb keilförmiger Bezirke, die unter Umständen große Teile des Präparates einnahmen. Manchmal enthielten auch in Gebieten mit sonst gut dargestellten roten Blutkörperchen einzelne Kapillaren und Kapillargruppen kaum gefärbte Erythrozyten.

Ein *fibrinöses Exsudat* fand sich unter den kurzfristig belasteten Tieren nur einmal, und zwar bei einem Tier, das den Versuch um 45 Stunden überlebt hatte. Dagegen war es bei den unter Normaldruck in hoher Sauerstoffkonzentration zu Tode gekommenen Tieren mit längeren Versuchszeiten ein häufiger Befund (Gruppe I, II und III der Tabelle). Ähnliches gilt für das Auftreten von *Leukozyten* in den Alveolen. Das Erscheinen beider Formelemente im Alveolarexsudat ist zeitlich wohl als das letzte Ereignis im Bild der Lungenveränderungen anzusehen. Es muß einem Schädigungsgrad entsprechen, der im akuten Versuch nicht erreicht wurde.

Neben dem alveolären war fast regelmäßig ein *interstitielles Ödem* zu beobachten, am frühesten und deutlichsten als *perivaskuläres Ödem*, wo es häufig schon vor dem Alveol ödem ausgebildet war. Bei stärkerer Ausbildung waren vor allem größere Gefäße von einem breiten hellen Band weitmaschig gespannten Adventitiagewebes umgeben. Die Lymphspalten erschienen stark erweitert und manchmal mit einem schwach eiweißhaltigen Inhalt angefüllt. In den Fällen mit stärkerem Ödem ergab das Bindegewebe hier eine deutliche Fibrinreaktion. Die gleichen Veränderungen in geringerer Ausdehnung fanden sich an den bindegewebigen Strukturen in der Umgebung der Bronchialäste. Auch das subpleurale Bindegewebe war aufgelockert und ließ eröffnete Lymphbahnen erkennen.

Am *Bronchialbaum*, vor allem im Bereich der Endverzweigungen, beobachteten wir bei allen Tieren entzündliche Erscheinungen: Austritt von Serum, Fibrin und Leukozyten, darüber hinaus bei einem Teil der Tiere Nekrosen der Epithelien, so besonders bei Tieren, die bei verhältnismäßig geringem Sauerstoffdruck (90% einer Atmosphäre) eine entsprechend lange Versuchszeit hatten (Gruppe I

und III) und bei solchen, die nach schwerer Belastung im Überdruck (3,5—5 ata O_2) Stunden und Tage bis zum Spontantod unter Normalatmosphäre überlebten (Gruppe VI). An den großen Bronchien fanden sich keine derartigen Veränderungen, nicht selten dagegen in ihrer Lichtung ein von Leukozyten durchsetztes seröses oder schleimiges Exsudat. Die starke Schleimsekretion ließ sich auch aus dem starken Hervortreten der Schleimzellen im histologischen Bild schließen.

Die bisherigen Befunde am Alveolar- und Bronchialsystem sind ihrer Genese und Bedeutung nach weitgehend geklärt. Seröses, fibrinöses und leukozytäres Exsudat rühren aus der Gefäßbahn und sind ein Ausdruck zunehmender Durchlässigkeit der Kapillarwand.

Neben diesen Veränderungen fanden sich nun die bereits beschriebenen *hyalinen Bandbildungen* an den Wandungen der Alveolen, Alveolargänge und Bronchioli resp. (Pichotka, Liebegott), die ihrer Morphogenese und pathogenetischen Bedeutung nach weitgehend ungeklärt sind, und deren Aufklärung das Hauptziel der vorliegenden Untersuchung sein soll.

Diese hyalinen Strukturen erfahren ihre stärkste Ausbildung an den vorspringenden Septen der Ductus alveolares, denen sie oft kappenförmig aufsitzen, selten folgen sie der Alveolarwand in größerer Ausdehnung. In voller Ausbildung fanden sie sich besonders bei Tieren mit *langen Versuchszeiten*, z. B. den Tieren der Versuchsgruppen I und III. In den gleichen Abschnitten, in denen diese hyalinen Bandbildungen auftraten, kamen eigenartige Veränderungen in der Färbbarkeit des Kapillarinhaltes zur Beobachtung: neben Kapillarstrecken, die optisch trennbare, aber auffallend schwach gefärbte Erythrozyten enthielten, fanden sich in unregelmäßig fleckiger Anordnung Abschnitte, deren Inhalt völlig homogen erschien und sich stark mit Eosin anfärbte. Trotz des starken Unterschiedes in der Färbungsreaktion fanden sich fließende Übergänge vom korpuskulären zum homogenen Kapillarinhalt. In den gleichen Abschnitten sichtbare hyaline Thromben in kleinen Gefäßen verhielten sich färberisch genau so wie die homogenisierten Kapillarstrecken.

Die Kuppen der Alveolargangssepten, die nicht von den beschriebenen hyalinen Bändern überzogen wurden, zeigten oft eigentümliche Veränderungen der über sie hinwegziehenden Kapillarbögen. Der dem Lumen zugewandte konvexe Wandanteil der Kapillaren war gegenüber den angrenzenden Wandabschnitten deutlich verdickt, etwas homogener und stark mit Eosin gefärbt. In einzelnen Fällen gab dieser Abschnitt im Weigert-Präparat schwach positive Fibrinreaktion. Das Kapillarlumen war im Bogenteil gegenüber anderen Abschnitten stärker erweitert und mit Erythrozyten gefüllt (Abb. 1 und 2). In dem größten Teil der untersuchten Präparate fanden sich diese Wandveränderungen ausschließlich an den erwähnten Prädilektionsstellen. In einigen Fällen aber waren die Wandungen der Kapillaren auch über größere Gebiete gleichmäßig in der beschriebenen Weise verändert. Der homogene Inhalt der Capillaren und kleinen Gefäße zeigte nun eine auffallende Ähnlichkeit mit den hyalinen Bandbildungen an den Alveolarwänden, vor allem bei den Tieren mit kürzerer Versuchszeit. Diese Übereinstimmung im färberischen und

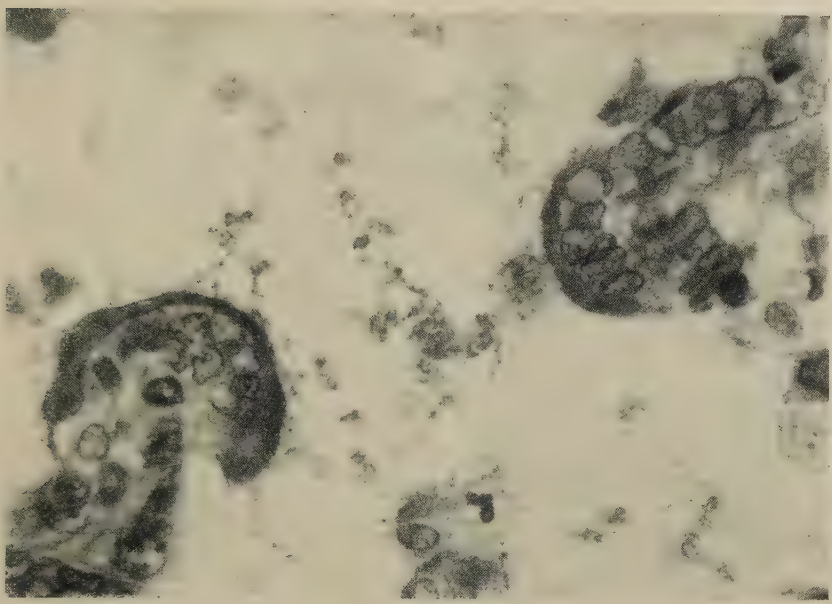


Abb. 1. Verdickung und Hyalinisierung der Kapillarwand an den vorspringenden Septenkuppen. Erweiterung und starke Füllung der Kapillaren mit Erythrozyten. Tier Me 11. 5 ata Sauerstoffüberdruck, Spontantod unter Sauerstoff nach etwa 80 Min. Färbung HE. Vergr. etwa 900fach.

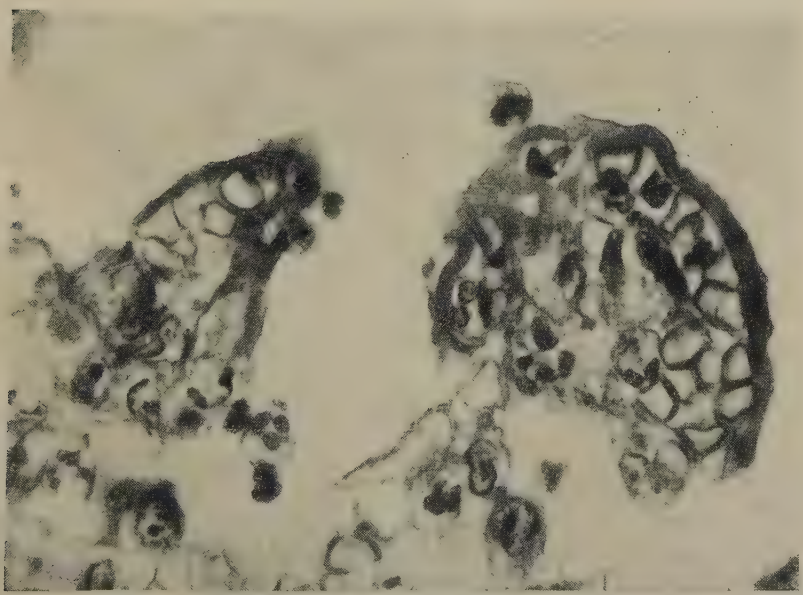


Abb. 2. Wie Abb. 1. Färbung van Gieson. Vergr. etwa 1500fach.

morphologischen Verhalten weist auf die Möglichkeit einer tieferen Beziehung hin.

Die ersten Stadien dieser Veränderungen ließen sich bei Tieren auffinden, die unter Sauerstoffüberdruck in Versuchszeiten mit einer unteren Grenze von etwa 2 Stunden zu Tode gekommen waren (Gruppe IV der Tabelle 1). Hier fand sich lediglich eine leichte Verbreiterung der das Alveolarlumen umgebenden feinen wandbildenden Strukturen, und zwar vorzugsweise auf der Höhe der vorspringenden

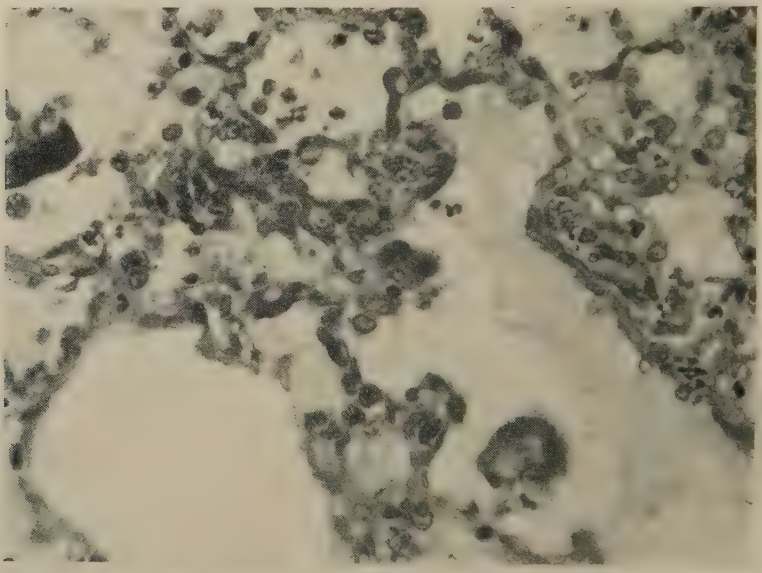


Abb. 3. Thrombosierung größerer Kapillarbezirke. Tier Me 14. Färbung HE. Vergr. etwa 250 fach.

Alveolarsepten, wobei deutlich zu erkennen war, daß es sich bei diesen Strukturen um veränderte Kapillarwände handelte (Abb. 1 und 2). In Präparaten von Tieren mit mehrstündiger Versuchsdauer, vor allem bei Tieren, die die Belastung um mehrere Stunden überlebt hatten (Gruppe VI), fanden sich neben prall gefüllten Kapillaren mit veränderter Wandung schon ausgedehnte breite hyaline Bänder. Hier waren also die Kapillaren mit ihrem Inhalt in Hyalinisierung übergegangen (Abb. 3 und 4). Das ergibt sich aus folgender Beobachtung: Stellenweise war noch die Zusammensetzung der homogenen Strukturen aus Einzelelementen von Erythrozytengröße nachzuweisen. Die das Alveolarlumen umgebenden hyalinen Bänder waren im übrigen von Kernen oder Resten derselben begrenzt, die sich nur als Endothelkerne von Kapillaren deuten ließen (Abb. 4). Bei den Tieren, die nach Belastung mit hohem Sauerstoffüberdruck noch mehrere Stunden an Außenluft

überlebten (Gruppe VI der Tabelle 1), fanden sich alle diese Bilder am deutlichsten ausgeprägt. Die Homogenisierung war hier nicht nur

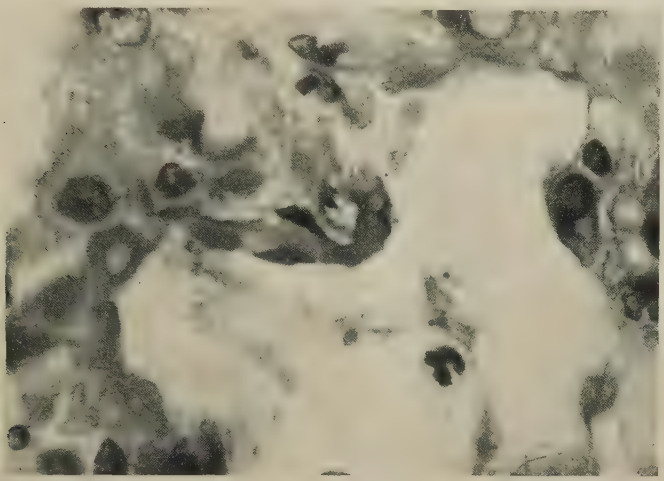


Abb. 4. Einzelne hyalin-thrombotische Kapillare mit zwei begrenzenden Endothelkernen. Tier Me 14. Färbung HE. Vergr. etwa 900fach.

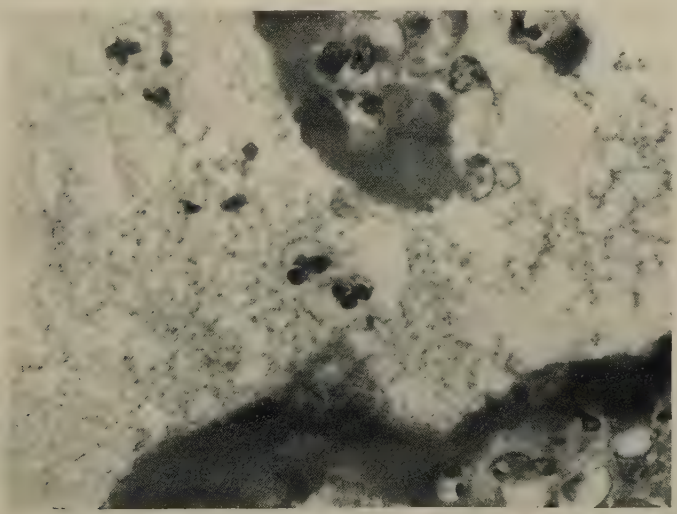


Abb. 5. Spätstadium der hyalinen Bandbildung. Verlust der scharfen Begrenzung gegen das Alveolarlumen durch Auflagerung intraalveolären Exsudates. Tier Me 17. Spontantod 4 Tage nach 140 Min. Aufenthalt unter 5,8 ata O_2-Überdruck an Außenluft. Färbung HE. Vergr. etwa 900fach (gleiche Vergrößerung wie in Abb. 1).

an alveolarwärts gelegenen Kapillarschlingen eingetreten, sondern es fanden sich ganze Netze völlig homogenisierter Kapillaren (Abb. 3).

In der Umgebung solcher Bezirke war der Vorgang in seinen einzelnen morphologischen Phasen besonders gut zu verfolgen.

Die Homogenisierung bleibt bei langer Versuchsdauer nicht auf die Kapillaren und deren Inhalt beschränkt. Man sieht nicht selten ein Weitergreifen auf die angrenzenden Gebilde, so daß ganze Alveolarsepten ihre Struktur verlieren.

Die Stadien, in denen die Anfänge der Veränderungen gut erkennbar sind, bleiben offenbar nicht lange bestehen. Bei Tieren mit sehr langen Versuchszeiten wurden sie gar nicht mehr beobachtet. Hier bot sich ein anderes Bild: Die hyalin verdickten Kapillaren hatten ihre scharfe Kontuierung nach dem Lumen hin verloren, die Begrenzung war unregelmäßig, in der Färbung aufgelockert und oft mehr wolkig (Abb. 5). Die Breite der hyalinen Bänder war in dieser Phase unter Umständen auf das Mehrfache der Kapillarenbreite angewachsen, so daß es manchmal fast zur Verlegung des Lumens der Alveolargänge gekommen war. Diese Bilder entsprachen dann ganz den früher bei der Sauerstoffvergiftung beschriebenen Veränderungen (Pichotka, Liebegott).

Besprechung der Befunde.

1. Von mehreren Autoren ist die Entstehung der hyalinen Bänder bei der Sauerstoffvergiftung und bei verschiedenen anderen Lungenerkrankungen auf die Anlagerung und Fällung intraalveolären Exsudates zurückgeführt worden (Farber und Wilson, Maréchaux u. a.). Nach unseren Befunden ist das Exsudat aber nicht für die Entstehung dieser Bildungen verantwortlich zu machen. Dagegen sprechen folgende Beobachtungen: Wo Exsudat und hyaline Strukturen nebeneinander vorkommen, unterscheiden sie sich immer deutlich in der Färbbarkeit, z. B. färben sich im Azanpräparat das Exsudat blau, die hyalinen Strukturen dagegen rot. Häufig sind Wandveränderungen zu beobachten, ohne daß in den Alveolen Spuren von Ödem nachzuweisen sind. Gegen die Beteiligung des Ödems spricht weiterhin die vorwiegende Lokalisation der hyalinen Bandbildungen an den *Septenkuppen*, da sich ein Ödem auf Grund der Oberflächenspannung in den Alveolarbuchten niederschlagen müßte, schließlich auch die häufig erkennbare Strukturierung der Bänder mit einem zur Alveolengrenze parallelen Verlauf.

Nach diesen Beobachtungen, nämlich dem färberischen Verhalten, der Topographie und besonders den im vorangegangenen dargestellten histologischen Befunden müssen wir annehmen, daß die fraglichen Strukturen von *wandständigem Material* ihren Ausgang nehmen und zwar von den *Kapillaren*.

Während nach den vorangegangenen Darlegungen die Bedeutung des Ödems für die Entstehung der Frühveränderungen ausgeschlossen werden kann, muß seine Mitbeteiligung bei der Entwicklung der späteren Bilder zugegeben werden.

Die wolkige Färbung des alveolarwärts gelegenen Teiles solcher breiter Bandbildungen könnte durch die unregelmäßige Auflagerung von Plasmaeiweiß bedingt sein. Dieser Niederschlag von Eiweißmassen wird vielleicht durch die Hyalinisierung der Kapillarwand mit ihrer Veränderung der Grenzflächen begünstigt.

Einer besonderen Besprechung bedarf die Tatsache, daß alle beschriebenen Veränderungen in *herdförmiger Anordnung* auftreten. Eine ähnliche herdförmige Anordnung ist von den Kampfgasvergiftungen bekannt und als die Folge von reflektorischen Bronchospasmen gedeutet worden, die durch den Reiz des Gases in höheren und tieferen Abschnitten des Bronchialbaumes ausgelöst werden sollen (Ricker, Laqueur und Magnus). Dieser Erklärung lag die Annahme zugrunde, daß normalerweise alle Infundibula weitgehend gleichmäßig an jedem Atemzug beteiligt seien. Nachdem es aber durch neuere Untersuchungen wahrscheinlich gemacht worden ist, daß die Durchlüftung der Lunge auch unter normalen Bedingungen läppchenweise abwechselt (Engelhardt, v. Möllendorff), konnte man annehmen, daß die Anordnung der Herde bei Phosgenvergiftung ein Abbild der Alveolenfüllung bei einzelnen Atemzügen darstellt.

Die Tatsache, daß bei der Sauerstoffvergiftung ebenfalls die Schädigung in herdförmiger Anordnung auftritt, verdient nun in diesem Zusammenhang besondere Aufmerksamkeit. Die Sauerstoffvergiftung ist insgesamt kein akuter Vorgang. Es spricht wenig dafür, daß durch den minimalen Zeitvorsprung, den ein Teil der Alveolen vor anderen bei einem regelmäßigen Wechsel in einzelnen Atemzügen haben könnte, diese starken Unterschiede in der Schädigung bedingt sind. Es muß in diesem Bild also das Ergebnis eines anderen bis jetzt noch ungeklärten Mechanismus enthalten sein. Vielleicht erfolgt der Wechsel in der Beatmung bestimmter Alveolargruppen nicht nach Atemzügen, sondern nach erheblich größeren Zeitabständen, oder die Lokalisation der Schädigung ist überhaupt durch eine im Organismus gelegene präformierte Ordnung bedingt (Kalbfleisch, Reinhard).

Einen wichtigen Beitrag zu der Frage der herdförmigen Anordnung der Schädigungen liefern die Untersuchungen von Ungar, Grossiord und Brincourt, die nach Reizung des peripheren Phrenikusstumpfes ähnliche Veränderungen in gleicher herdförmiger Anordnung erhielten. Das deutet darauf hin, daß die Anordnung derartiger Veränderungen durch die Störung nervöser Regulationen bedingt werden kann.

2. Nach der Klärung der Morphogenese der hyalinen Bandbildungen an den Alveolarwänden stellt sich die *Pathogenese* aller bei der Sauerstoffvergiftung auftretenden Veränderungen folgendermaßen dar:

Im Anfang stehen *Durchblutungsstörunegn.* Durch die Erhöhung der Sauerstoffspannung kommt es zur *Erweiterung und Füllung der*

Kapillaren, einem Effekt, der offenbar sehr schnell eintreten kann (Schmiedehausen, David). Diesem Zustand der Kapillarerweiterung schließt sich das Auftreten von Exsudat der verschiedenen Formen als Ausdruck der zunehmenden Durchlässigkeit der Kapillarwände an. Vorwiegend bei längerem Versuchsverlauf kommt es mit Bevorzugung der in das Alveolarlumen hineinragenden Kapillarschlingen zunächst zu *Veränderungen der Kapillarwand*, dann zur *Homogenisierung der gesamten Kapillare* mit ihrem Inhalt. Die Hyalinisierung geht schließlich auf die ganzen Alveolarsepten über.

Die starke Beteiligung der Endverzweigungen des Bronchialsystems im Gegensatz zu den größeren Bronchien kann sowohl durch die größere Empfindlichkeit des auskleidenden Epithels, als auch durch die enge Beziehung dieser Bronchialabschnitte zu dem Gefäßsystem der Alveolen erklärt werden. Die Veränderungen sind hier durchaus denen in den Alveolen gleichzusetzen.

Der Ablauf der morphologischen Veränderungen vollzieht sich also in der Hauptsache am *Kapillarsystem* oder ist unmittelbar von dessen Veränderungen abhängig. Dabei bedarf die Tatsache noch einer besonderen Beachtung, daß sowohl bei den Veränderungen der Kapillarwände, als auch der Kapillarinhalte die *in das Lumen der Alveolargänge vorspringenden Septenkuppen in auffallender Weise bevorzugt sind.*

Aschoff, der dasselbe Bild bei der Phosgenvergiftung beschrieb, deutete die Bevorzugung der Septenkuppen als Ausdruck der lokalen Schädigung an den dem Gasstrom besonders ausgesetzten Stellen. Unter unseren Versuchsbedingungen stößt diese Erklärung aber auf Schwierigkeiten, da für unsere Versuchsanordnung nicht so einfache Verhältnisse gelten, wie für die relativ kurzfristige Phosgenvergiftung. Die Konzentration des Sauerstoffs ist überall in der Alveole und im Alveolargang gleich groß, so daß eine Bevorzugung der Septenkuppen bei seiner Einwirkung schwer vorstellbar ist. Man könnte an einen mit der Atmung gehenden zusätzlichen Schädigungsfaktor denken, etwa an veränderte Feuchtigkeit oder Lufttemperatur des Versuchsraumes. Das Versuchsmaterial von Clamann und Becker-Freyseng, das unter peinlicher Einhaltung normaler Klimabedingungen gewonnen wurde, weist nach den Untersuchungen von Liebegott jedoch die gleichen lokalisatorischen Besonderheiten auf, so daß man die ursächliche Wirkung dieser beiden Faktoren wohl ausschließen kann.

Es wäre auch denkbar, daß in einzelnen Gebieten der Lunge während des Lebens längere Zeit ein Kollaps der Alveolen vorgelegen hat, der den Zutritt des Sauerstoffstromes mehr zu den Alveolargängen

und damit den Septenkuppen, weniger dagegen in die Tiefe der Alveolarsäcke ermöglichte. Daß solche Gebiete im histologischen Präparat wieder entfaltet erscheinen, kann das Ergebnis terminaler oder postmortaler Vorgänge sein. Derartige Verhältnisse können bei Flachatmern, wie es das Meerschweinchen darstellt, allein durch den Atemtyp bedingt sein.

Die größere Wahrscheinlichkeit hat aber eine letzte Möglichkeit für sich, nämlich die, daß die Bevorzugung der in das Alveolarlumen vorspringenden Kapillarbögen und besonders der dem Alveolarlumen zugewandten Kapillarwand gar nicht die unmittelbare Folge exogener Einflüsse ist, sondern ihre Ursache in endogenen Bedingungen hat. Insbesondere ist im Sinne Rickers eine *primäre Kreislaufstörung* als Ursache der Kapillarveränderungen zu erwägen. Die in den Kapillaren herrschende Stase könnte z. B. die Kapillarwand an den komplexen Bögen, welche unter besonderer Spannung stehen, also am stärksten belastet sind, für die Wirkung des konzentrierten Sauerstoffs besonders empfindlich machen. Ob solche intrapulmonalen Kreislaufstörungen lokal in der Lunge durch den Sauerstoff ausgelöst werden, oder ob zentralnervöse Einflüsse auf den Tonus der Lungenkapillaren nach Art der Vorgänge beim zentrogenen Lungenödem (Jarisch und Mitarbeiter) dabei eine Rolle spielen, können wir auf der Grundlage unseres Untersuchungsgutes nicht entscheiden, da es in seiner Gewinnung nicht auf dieses Problem ausgerichtet war, und diese Frage am Rande unserer ursprünglichen Problemstellung lag.

3. Die Gesamtheit der im vorangegangenen für die Sauerstoffvergiftung herausgestellten Lungenveränderungen ist bereits in vollkommen übereinstimmender Weise für die Phosgenvergiftung beschrieben worden (Laqueyr und Magnus, Adelheim, Aschoff, Grolll Ricker u. a.), wobei allerdings die von uns beschriebenen feineren histologischen Veränderungen im allgemeinen nicht in der gleichen Weise berücksichtigt wurden. Auf das Vorkommen des gleichen Bildes bei der Nitrosegasvergiftung hat besonders Schultz-Brauns hingewiesen. Ebenso wie im morphologischen Bild besteht auch für das klinische Bild dieser Vergiftungen eine weitgehende Übereinstimmung, wobei zu bemerken ist, daß dieser Vergleich erst für den *Zustand* der eingetretenen Vergiftung gültig ist, nicht dagegen für den Vergiftungs*vorgang*.

Die Phosgenvergiftung und die bei ihr auftretenden Lungenveränderungen waren ursprünglich auf die Abspaltung von Salzsäure aus dem Phosgenmolekül zurückgeführt worden (Aschoff). Eine Unterstützung schien diese Ansicht durch die Tatsache zu finden, daß durch Salzsäure niedriger Konzentration sich ähnliche Veränderungen in der Lunge hervorrufen lassen, wie durch Phosgen (Ricker, Winternitz, Smith und McNamara).

Trotzdem erhob sich schon bald ein Widerspruch gegen die Annahme, daß die Salzsäureabspaltung der allein wirksame Vorgang bei der Phosgenvergiftung sei. Der quantitative Vergleich der Wirksamkeit ergab für Phosgen eine 800fach höhere Giftigkeit, als es der Menge daraus abspaltbarer Salzsäure bei gleicher Zuführung entsprach. Zudem stellte es sich heraus, daß das gleiche klinische und morphologische Bild der Lungenschädigung auch durch Kampfstoffe herbeigeführt werden konnte, die wie das Chlorpikrin überhaupt nicht hydrolysieren (Flury). Damit mußte ein anderer Mechanismus der Phosgenwirkung gesucht werden.

Auch bei der Sauerstoffvergiftung kommt es zu keiner wirksamen Änderung der H-Ionenkonzentration, wie es für eine Ätzwirkung erforderlich wäre. Wir müssen also annehmen, daß derartige Bilder nicht nur durch Säurewirkung, sondern auch durch andere Ursachen auszulösen sind. Es kann sich bei den beschriebenen Veränderungen nicht um eine für das schädigende Agens spezifische Wirkung handeln. Die Tatsache, daß drei so verschiedene Stoffe, zwischen denen keine einfachen physikalischen oder chemischen Beziehungen bestehen, zum gleichen Reaktionsablauf führen, ist nur damit zu erklären, daß dieser Ablauf organgebunden ist, und durch jede Schädigung herbeigeführt werden kann, die in gleicher Weise an diesem Organ angreift.

4. Die bei der Sauerstoffvergiftung und den Gasvergiftungen beschriebenen Lungenveränderungen finden eine auffallende Parallele in Bildern, wie sie von amerikanischen Autoren für die *Grippelunge* beschrieben wurden. Diese Übereinstimmung erstreckt sich insbesondere auch auf das Vorkommen homogener hyaliner Bandbildungen an den Wandungen der Alveolen und der Alveolargänge (Farber und Wilson, Wolbach, Opie, Goodpasture u. a.).

Wir sind der Ansicht, daß es sich bei diesen Bandbildungen bei der Grippe um Strukturen handelt, die in ihrer Morphogenese auf die gleichen Momente zurückgeführt werden müssen wie bei der Sauerstoff- und bei der Phosgen- und Nitrosegasvergiftung, d. h. auf eine toxisch ausgelöste primäre Durchblutungsstörung mit folgender Kapillarschädigung. Die gleiche Meinung ist auch bereits von einem Teil der Autoren geäußert worden, die diese Veränderungen bei der Grippe zuerst beschrieben haben (Brannon und Goodpasture).

Daß bei der Grippe eine Kapillarschädigung im Mittelpunkt des Krankheitsgeschehens steht, ist nach dem Ergebnis zahlreicher klinischer und experimenteller Untersuchungen als sicher anzunehmen (Lichtwitz, Kuczynski und Wolff, Fildes und Mc. Intohs u. a.). Auch die Häufigkeit des hämorrhagischen Charakters der Lungenveränderungen bei der Grippe deutet auf die überragende Rolle der Kapillarschädigung bei der Grippe hin (Kuczynski und Wolff, Wiesner, Wätjen, Opie, Oberndörfer u. v. a.). Auch bei verschiedenen Lungenentzündungen anderer Ätiologie sind ähnliche Veränderungen beobachtet worden (Farber und Wilson, Hayashi).

Schließlich ist auch in den Lungen Neugeborener das Auftreten hyaliner Strukturen von verschiedenen Autoren beschrieben worden (Steinharter u. a.). Diese Strukturen sind allerdings nicht immer von rein hyalinem Charakter, meist enthalten sie fettfärbbare Substanzen in geringerer oder größerer Aus-

dehnung. Dennoch möchten wir annehmen, daß auch diese Strukturen ihre Entstehung den Veränderungen der Kapillaren verdanken. Die Tatsache der Fettfärbbarkeit spricht nicht gegen diese Ansicht, da hyaline Strukturen mit der Zeit eine zunehmende Neigung zur Verfettung aufweisen. Ihre Entstehung aus aspiriertem Material, wie sie von den meisten Autoren vertreten wird, erscheint uns nach dem Gesagten unwahrscheinlich.

Überblicken wir die so dargestellten Parallelen bei den angeführten Vergiftungs- bzw. Krankheitsbildern, so läßt sich die zentrale Stellung der Kapillarschädigung in den Lungen bei ihnen allen unschwer erkennen. In der Beeinflussung dieses Stromgebietes haben wir das gemeinsame Prinzip zu suchen. Ist die Störung dieses Anteiles der Strombahn einmal eingetreten, so entwickeln sich die beschriebenen morphologischen Veränderungen der Lunge zwangsläufig und führen, wenn der Prozeß lange genug anhält, zum Tode. Die Ausbildung der Lungenveränderungen von der Kapillarschädigung bis zum voll entwickelten Bild, stellt gewissermaßen die letzte gemeinsame Strecke einer größeren Zahl von Einwirkungen auf den Organismus dar. Die Gemeinsamkeit der morphologischen Bilder erlaubt Rückschlüsse auf grundsätzliche gemeinsame Prinzipien in ihrer Pathogenese.

5. Die beschriebenen Lungenveränderungen bringen ohne Zweifel eine Hemmung des Gasaustausches in der Lunge mit sich. Für diese „Pneumonose" sind die einzelnen Elemente des histologischen Bildes in verschiedener Weise verantwortlich gemacht worden, zum Teil wurde sie ausschließlich auf die hyalinen Wandveränderungen bezogen. Wir neigen dagegen zu der Ansicht, daß sämtliche Elemente des histologischen Bildes gemeinsam für die Pneumonose von Bedeutung sind. Die starke Erweiterung der Kapillaren bringt wegen des größeren Diffusionsweges und der Strömungsverlangsamung ungünstigere Verhältnisse für die Sauerstoffsättigung des Blutes mit sich. Weiterhin erschweren die verdickten Kapillarwände und das alveoläre Ödem den Durchtritt des Sauerstoffs, wie es sich aus den Untersuchungen von Krogh über die Diffusionsgröße in ihrer Abhängigkeit von der zu durchdringenden Schicht ergibt.

Als letztes Element kommen schließlich die bisher als Quellungsnekrosen beschriebenen hyalinen Bänder an den Alveolarwandungen in Betracht. Ihre Bedeutung war ursprünglich in einer Verdickung der Grenzschicht zwischen Alveolar- und Kapillarlumen gesehen worden. Da sie aber nach unseren Untersuchungen keine Verdickung der Grenzschicht darstellen, sondern das Ergebnis der Hyalinisierung ganzer Kapillaren sind, liegt ihre Bedeutung mehr in der *Verminderung der Gesamtdiffusionsfläche*, da die Kapillaren als Ganzes ausgefallen sind. Die gleiche Bedeutung haben die unmittelbaren Vorstadien dieser Bilder, die intrakapillären Agglutinationsthrombosen, die später dann in die breiten hyalinen Bänder übergehen. Die entscheidende

Bedeutung für das Zustandekommen der Pneumonose kommt aber wohl dem *Ödem* und den *Veränderungen der Kapillarwände* zu.

Zusammenfassung.

1. Die histologischen Veränderungen der Lunge bei den verschiedenen Formen der Sauerstoffvergiftung beruhen in ihrer Gesamtheit auf einer primären Störung des Kapillarkreislaufes und einer Kapillarschädigung. Die Veränderungen bestehen in starker Erweiterung und Blutfüllung der Kapillaren, Verdickung und Hyalinisierung der Kapillarwände, vorwiegend an den konvexen Bögen der Kapillarschlingen, Austritt von Exsudat jeder Form und intrakapillären Agglutinationsthrombosen.

2. Auch die hyalinen Bandbildungen an den Wandungen der Alveolen, Alveolargänge und Bronchioli resp. bei der Sauerstoffvergiftung, die bislang als Quellungsnekrosen der Alveolarwand bzw. als Auflagerungen von Exsudat angesehen wurden, sind auf diese primäre Kapillarschädigung zurückzuführen. Sie entstehen durch intrakapilläre Agglutinationsthrombose mit anschließender Hyalinisierung des thrombosierten Kapillarinhalts. Für das Zustandekommen der Spätveränderungen ist eine sekundäre Anschichtung von Ödemeiweiß an die veränderten Kapillaren anzunehmen.

3. Die den morphologischen Veränderungen zugrunde liegende Störung des Kapillarkreislaufes und die Kapillarschädigung kann auf verschiedenen Wegen zustande kommen. Darauf weist das Vorkommen der gleichen Veränderungen bei Phosgen-, Nitrosegasvergiftung und Grippe hin, für die nach dem morphologischen Bild die gleiche Kapillarschädigung als Ausgangspunkt der späteren Veränderungen angenommen werden muß.

4. Diese Veränderungen sind für Schädigungen charakteristisch, die einerseits derartige Durchblutungsstörungen setzen, andererseits vom Alveolarlumen her in besonderer Weise auf die Kapillaren einwirken.

5. Sowohl die Gesamtheit der histologischen Veränderungen, als auch einzelne ihrer Komponenten können im Sinne einer Erschwerung des intrapulmonalen Gasaustausches, einer „Pneumonose", wirksam werden.

Literatur.

Adelheim, R.: Virchows Arch. **236**, 309 (1922); **240**, 417 (1923). — Aschoff, L.: Über anatomische und histologische Befunde bei Gasvergiftungen. Berlin 1916. — Brannon, D. u. E. W. Goodpasture: Zit. nach Opie. — Clamann, H. G. u. H. Becker-Freyseng: Luftf.med. **4**, 1 (1940). — David, O.: Z. klin. Med. **74**, 404 (1912). — Engelhardt, A.: Z. Biol. **99**, 596 (1939). — Farber, S. and J. L. Wilson: Arch. Path. (Am.) **14**, 437, 450 (1932). — Fildes, P. and J. McIntosh: Brit. J. exper. Path. **1**, 119 (1920). — Flury, F.: Z. exper. Med. **13**, 1

(1921). — Goodpasture, E. W.: Zit. nach Opie. — Groll, H.: Virchows Arch. **231**, 480 (1921). — Hayashi: Zit. nach Farber u. Wilson. — Jarisch, H., M. Henze u. A. Amann: Arch. Kreisl.forsch. **7**, 301 (1940). — Kalbfleisch, H.: Allg.path. Schriftenr. **1941**, H. 2; **1942**, H. 3/4. — Karsner, H. T.: J. exper. Med. (Am.) **23**, 149 (1916). — Krogh, A.: Anatomie und Physiologie der Kapillaren. Berlin 1929. — Kuczynski, M. H. u. E. K. Wolff: Erg. Path. **19**, 947 (1921). — Laqueur, E. u. R. Magnus: Z. exper. Med. **13**, 31 (1921). — Lichtwitz: Berl. klin. Wschr. **1919 II**, 1083. — Liebegott, G.: Beitr. path. Anat. **105**, 413 (1941). — Maréchaux, E. W.: Arch. exper. Path. (D.) **201**, 213 (1943). — Möllendorff, W. v.: Die örtliche Regulierung der Atmung und ihre gestaltlichen Grundlagen, Bd. I/1. Aschoff-Vorlesungen. Freiburg 1942. — Oberndorfer, S.: Münch. med. Wschr. **1918 II**, 811. — Opie, E. L.: Arch. Path. (Am.) **5**, 285 (1928). — Pichotka, J.: Beitr. path. Anat. **105**, 381 (1941). — Pichotka, J. u. H. A. Kühn: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 336 (1947). — Reinhard, M.: Verh. dtsch. path. Ges. **29**, 222 (1937). — Ricker, G.: Slg klin. Vortr. **13**, Nr 226—260 (1919). — Schmiedehausen, P. G: Die pathologisch-anatomischen Veränderungen der Lunge bei veränderten Sauerstoffgehalt der Atemluft. Inaug.-Diss. Halle 1909. — Schultz-Brauns, O.: Virchows Arch. **277**, 174 (1930). — Steinharter, R.: Beitr. path. Anat. **99**, 148 (1937). — Ungar, G. A., A. Grossiord u. J. Brincourt: Zit. nach Jarisch. — Wätjen, J.: Dtsch. med. Wschr. **1919 I**, 310. — Wiesner, R. v.: Wien. klin. Wschr. **1918 II**; **1920 I**, 531. — Winternitz, M. C., G. H. Smith and F. P. McNamara: J. exper. Med. (Am.) **32**, 199, 211 (1920). — Wolbach, S. B.: Bull. Hopkins Hosp., Baltim. **30**, 104 (1919).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Das Verhalten der Elektrolyte im Blut und Gewebe bei erhöhten CO_2-Spannungen der Atmungsluft.

Von

Günther Malorny.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Januar 1948.)

Es gibt nur wenige Stoffe in der Natur, die das Interesse des experimentierenden Biologen in einem solchen Ausmaß erregt haben wie die Kohlensäure. Ihre allgemeine Bedeutung im Energiehaushalt der belebten Welt sowie das Vorhandensein einer Reihe physikalisch-chemischer Besonderheiten, wie z. B. die Fähigkeit, bald als Elektrolyt, bald als undissoziiertes Anhydrid aufzutreten, räumen ihr eine zentrale Stellung im Ablauf des biologischen Geschehens ein. Vermöge ihrer leichten Eliminierbarkeit und ihrer Eigenschaft, sich mit Basen zu wirksamen Puffersalzen zu verbinden, wird die Kohlensäure unter Zwischenschaltung des Hämoglobins zum wichtigsten Reaktionsregulator zwischen Blut und Gewebe.

Der Einfluß der Kohlensäure auf das System Blutkörperchen/Plasma wurde schon Ende des vorigen Jahrhunderts von Nasse [1], Gürber [2], Hamburger [3] u. a. richtig erkannt oder vermutet. Sie fanden, daß die in die Blutkörperchen eindringende Kohlensäure hier in verstärktem Maße Bikarbonat bildet, das sich gegen die Chlorionen des Plasmas austauscht. Sie fanden ferner, daß diese Anionenaustauschvorgänge mit Wasserverschiebungen vom Plasma in Richtung Blutkörperchen einhergehen. Später gelang es in klassisch gewordenen Untersuchungen L. J. Henderson [4], van Slyke [5] u. a. die physiologischen Funktionen der Kohlensäure unter Einbeziehung des Sauerstoffs zu dem in sich geschlossenen System Blut auszubauen. Wesentlich wurde dies ermöglicht durch die Einführung und Anwendung der Donnan-Membrangleichgewichte, die bei Beachtung der besonderen Permeabilitätsverhältnisse in den biologischen Systemen schnell allgemeine Gültigkeit erlangten. Das Vorhandensein nichtdiffusibler Eiweißanionen in der wäßrigen Phase wie in der Zellphase bedeutete für die Anwendung des Membrangesetzes auf das Blutsystem keine nennenswerte Komplikation, da die Plasmaproteine gegenüber dem Hämoglobin praktisch vernachlässigt werden konnten. Eine ähnliche Ionenverteilung wie zwischen Blutkörperchen und Plasma konnte auch für das System Plasma/Gewebsflüssigkeit trotz Fehlens einer trennenden Membran nachgewiesen werden; dies um so leichter, als die Gewebsflüssigkeit praktisch eiweißfrei ist. Es lag nun nahe, das Bestehen entsprechender Donnan-Gleichgewichte zwischen den Binnenelektrolyten der Gewebszellen und den Außenelektrolyten der Gewebssäfte anzunehmen, wie dies Mond und Netter [6] schon vor längerer Zeit aus theoretischen Erwägungen forderten und wofür neuerdings Boyle und Conway [7] beachtenswerte Hinweise liefern konnten.

So genau wir über die Mechanismen, die der Erhaltung des Säure-Basengleichgewichtes im Blute dienen, unterrichtet sind, so wenig können wir über die wahren isohydrischen Leistungen der Gewebe aussagen. Zahlreiche p_H-Messungen wurden zwar in gefrorenen Muskeltrümmern und in Muskelpreßsäften vorgenommen, wobei die p_H-Werte zwischen 6,0 und 7,2 gefunden wurden. Da es sich hierbei aber um Bestimmungen in Muskeln handelte, die aus dem Verbande gelöst waren, konnte man ihnen bei der Beurteilung der intravitalen Vorgänge nicht allzu hohe Bedeutung beimessen. Wertvollere Hinweise gab LEUTHARDT[8] auf Grund seiner Kohlensäurebindungskurven der Gewebe. Danach herrschte bei gleicher CO_2-Spannung im Lebergewebe eine wesentlich saurere Reaktion als in der Blutflüssigkeit oder in den Blutkörperchen. Hinsichtlich seiner Pufferungsgröße lag das Lebergewebe zwischen Gesamtblut und Plasma. In mMol/p_H-Einheit betrug der Pufferungswert β für das Lebergewebe 30,2, für das Gesamtblut 41,0 und für das Serum 12,8. Für das Muskelgewebe fanden DANIELSON und HASTINGS[9] einen niedrigeren Gesamtkohlensäuregehalt als für das Lebergewebe. Nach LEUTHARDT[8] ist es indessen ohne Kenntnis des Gesamtbasengehaltes der Gewebe nicht möglich, die tieferen Ursachen für die beobachteten Unterschiede anzugeben.

Um ein wenig Licht in die Gewebsvorgänge zu bringen, die dem Reaktionsausgleich dienen, wurde der Weg beschritten, durch Säurebelastung der Blutpuffersysteme die Gewebszellen zu zwingen, ihre Reaktionsregulationen in Gang zu setzen. Denn nur auf diese Weise konnten deutlichere Rückwirkungen auf die Pufferungsleistungen der Gewebe erwartet werden.

In Form des Kohlensäureanhydrids bietet sich nun dem Untersucher eine ideale Substanz, die imstande ist, bei fortlaufend gesteigertem Angebot allmählich sämtliche Puffersysteme des Körpers zu erschöpfen. Das CO_2 eignet sich wegen der bequemen Dosierbarkeit und wegen der momentan einsetzenden Reversibilität seiner Wirkung nach Absetzen der Zufuhr hierfür besonders gut.

In Analogie zu den schon lange bekannten Mineralverschiebungen im System Blutkörperchen/Plasma kann man mit Recht ähnliche Austauschvorgänge zwischen Blut und Gewebe vermuten. Der unmittelbare Ausgleich der Elektrolyte findet jedoch zwischen Gewebszelle und Gewebsflüssigkeit statt. Das Blut ist an diesem Prozeß nur mittelbar beteiligt, indem es seine Pufferungskraft in die Waagschale wirft. Über diesen Weg kommt es als Lieferant oder Abnehmer von Basen und Säuren in Frage. Es übt aber über die DONNAN-Gleichgewichte bei einigen Elektrolyten einen bestimmenden Einfluß auf die Ionenverteilung aus. Dies zeigt sich z. B. in den Beziehungen zwischen Serum-K und Muskel-K, wo der Körper bestrebt ist, ein bestimmtes Potentialgefälle aufrecht zu erhalten. Wenn in der Literatur von Gewebe gesprochen wird, so sind häufig die Zellen und Gewebssäfte in gleicher Weise gemeint. Bei den hier zur Diskussion stehenden Fragen wird eine klare Trennung zwischen den Zellen und den sie umspülenden Säften vorgenommen.

Die Gewebsuntersuchungen erstreckten sich in der Hauptsache auf die Muskulatur, weil hier die Verhältnisse vermöge ihres Teilhabens an den Stoffwechselprozessen leichter übersehen werden konnten. Auch war es auf diese Weise möglich, das Verhalten des Gewebes im intakten Organismus ohne allzu störende Eingriffe zu studieren.

Wie im einzelnen zu zeigen sein wird, antwortet der Körper auf die Kohlensäurebelastung mit der *reversiblen Aufnahme von Alkali in den Muskel und erhöht* so durch Vergrößerung des Gesamtbasenbestandes die *Pufferungskraft des Gewebes.* Auf diese Weise wird also die Azidoseschwelle des Muskels in einen höheren CO_2-Konzentrationsbereich verlegt. Der *Muskel gibt* für die aufgenommenen $K^{\cdot}$ und (wahrscheinlich auch) $Na^{\cdot}$ *im Austausch* $H^{\cdot}$ *an die Gewebsflüssigkeit ab.* Die *Leber büßt durch Basenbereitstellung* im Rahmen der einsetzenden Notfallsfunktionen einen Teil ihrer *Pufferungskapazität* ein.

Die Kationenaustauschprozesse im System Muskelzellen/Gewebsflüssigkeit — im wesentlichen von $H^{\cdot}$ gegen $K^{\cdot}$ — *entsprechen den Anionenaustauschvorgängen im System Plasma/Blutkörperchen.* Die *Analogie wird verstärkt durch gleichzeitige Wasserverschiebungen im erstgenannten System.* Der Muskel gibt wegen des osmotischen Gefälles Wasser an die extrazellulären Flüssigkeiten ab, da der primäre Sitz der osmotischen Störungen im Blut zu suchen ist. Die Alkaliaufnahme in den Muskel, die hier, soweit es sich um K handelt, mit einer verstärkten Bikarbonatbildung einhergeht, kompensiert den Effekt des osmotischen Ungleichgewichtes nur zum Teil.

Beweise für die Richtigkeit dieser Vorstellungen sollen die folgenden Untersuchungsberichte erbringen.

Methodik.

Bei der Untersuchung von Elektrolytbewegungen zwischen Gewebszellen und Gewebsflüssigkeiten unter veränderten Umweltbedingungen bildet die möglichst genaue Kenntnis des normalen Mineralbestandes die Grundlage. Ebenso notwendig ist es, vergleichbare Ausgangswerte zu erhalten.

In vergleichenden Mineraluntersuchungen an einer Reihe von Säugetieren und auch des Menschen fanden PODOLSKY und MALORNY[10] zum Teil erhebliche Unterschiede innerhalb der einzelnen Tierklassen und Individuen, für die jeweilig untersuchte Tierart aber dennoch deutlich vergleichbare Verhältnisse. Sie stellten außerdem fest, daß Unterschiede in der Durchblutungsgröße der Extremitätenmuskulatur keinen störenden Einfluß auf den Gehalt der Muskelfaser an gewissen Elektrolyten, wie z. B. an Na, ausüben. So stimmte der nicht dem Cl zugeordnete Na-Gehalt des Muskels, von MALORNY und NETTER[11] als Faser-Na bezeichnet, in der rechten und linken Extremität praktisch überein. Dieses überschüssige Na wurde schon vor längerer Zeit in Froschgefäßdurchströmungspräparaten von MOND und NETTER[12] als nicht zur Blut- und Gewebsflüssigkeit des Muskels gehörig erkannt. Später lieferten für die Annahme

getrennter Na- und Cl-Bewegungen im System Muskelfaser/Zwischengewebe Hudoffsky, Malorny und Netter[13] in Untersuchungen über die Elektrolytverteilung bei der NaCl-Vergiftung einen weiteren experimentellen Beweis. Diese Vorstellungen sind auch für die vorliegenden Untersuchungen von grundlegender Bedeutung.

Die Versuche wurden einerseits an Kaninchen, andererseits an Hunden und Katzen angestellt. Auf diese Weise konnte die Reaktionsweise sowohl fleisch- wie pflanzenfressender Tiere mit ihrem verschiedenen Verhalten hinsichtlich Pufferungsleistung und Alkalibestand untersucht werden. Ein weiterer, nicht unwesentlicher Vorteil bot sich in Form der verschiedenen Mineralzusammensetzung der Blutkörperchen bei diesen Tieren: K als Hauptkation der Erythrozyten des Kaninchens und Na statt dessen bei Hund und Katze. Diese Tatsache war von besonderer Bedeutung bei der Berechnungsweise der Mineralanteile, die auf den zellulären und extrazellulären Raum der einzelnen Organe entfielen.

Als Narkosemittel wurde Urethan in üblicher Dosierung gewählt. Bei den Hunden und Katzen erwies es sich meist als notwendig, für die Dauer der Operation Äther als Zusatznarkose zu verwenden.

Daß die Narkose allein und das Verweilen in der Narkose während der üblichen Versuchszeit von 3 Stunden praktisch keinen Einfluß auf die Mineralverschiebungen zwischen Blut und Gewebe ausübt, ist schon in früheren Untersuchungen festgestellt und in neuerdings angestellten Kontrollen für das K erweitert worden (Tabelle 1). Die Blut- und Serumanalysen werden wegen ihrer geringeren Bedeutung für die bearbeitete Fragestellung nicht wiedergegeben. Die Abweichungen von der Ausgangshöhe waren, wie zu erwarten, sehr geringfügig. Bei den Elektrolyten des Muskels lassen sich gleichmäßige Änderungen, die als narkosebedingt aufgefaßt werden könnten, nicht feststellen. Die Wertepaare in Tabelle 1 geben die mittleren Analysenzahlen zu Beginn der Narkose und nach 3 Stunden Dauer

Tabelle 1. *Narkosekontrollversuche.*
Angabe der Mittelwerte zu Beginn und nach dreistündiger Urethannarkose.

Tierart	Gesamtmuskel (mg-%)			Na/Cl extrazellulär	Faser-Na (mg-%)	Trockensubstanz %	
	K	Na	Cl			Muskel	Blut
Kaninchen I	383	54,5	34,9	0,723	32,3	24,1	20,6
	362	57,4	39,3	0,701	33,1	23,0	19,6
Kaninchen II	362	54,1	48,1	0,677	24,5	23,5	19,5
	364	52,6	45,3	0,698	23,6	23,4	18,6
Katze I	353	56,6	41,9	0,715	29,3	26,2	18,8
	347	61,0	43,1	0,724	32,7	25,9	18,0
Katze II *	369	83,9	43,8	—	(45,4) **	23,5	18,2
	391	78,6	42,7	—	(44,2)	22,9	17,7

* Nach Beendigung des Versuches war der K-Gehalt des Plasmas ebenfalls etwas erhöht.

** Das überschüssige Na ist hier auf den Gesamtmuskel bezogen.

wieder. Sehr beachtenswert sind die regelmäßigen Trockengewichtsabnahmen des Muskels. Dieses Verhalten steht im Gegensatz zu den entsprechenden Wasserverschiebungen unter dem Einfluß der Kohlensäure, was später ausführlich zu behandeln sein wird. Die Abnahmen der Bluttrockensubstanz sind wahrscheinlich zum wesentlichen Teil auf die Blutentnahmen zu Beginn des Versuches zurückzuführen; sie sind geringer als nach CO_2-Einwirkung.

Nach Eintritt der Narkose wurde eine A. femoralis unmittelbar nach ihrem Austritt aus der Fossa ovalis unterbunden, um möglichst alle Äste aus dem Kreislauf auszuschalten. Dadurch erfolgte Fixierung der Ausgangswerte. In einigen Fällen wurde anschließend die Leber freigelegt und hiervon ein etwa 5—10 g großes Stück exzidiert. Auf sorgfältige Präparation und Blutstillung wurde geachtet (Unterbindung des zugehörigen Gefäßstranges bzw. Abklemmung des Leberlappens durch Anlegen einer Darmklemme). Schließlich Entnahme von Blut aus der A. carotis für die chemische Analyse der Elektrolyte, für die Alkalireservebestimmung nach VAN SLYKE (manometrische Methode) und in einigen Versuchen auch für die Bestimmung der Milchsäure (kalorimetrische Methode nach DISCHE-LASZLO).

Anschließend wurde das operierte Tier in einen gasdichten, etwa 400 Liter fassenden Behälter gelegt und in ein warmes Tuch eingehüllt. Der Kasten wurde durch eine in ihm brennende Glühlampe erwärmt. Die Temperatur hielt sich zwischen 19 und 25° C. Zur Kontrolle wurde die Körpertemperatur der Tiere rektal gemessen; sie schwankte nur unerheblich. Um keine Störungen durch Zunahme der Luftfeuchtigkeit während der Versuchsdauer zu bekommen, wurde ein Gefäß mit Chlorkalzium in den Kasten gesetzt. Die relative Feuchte schwankte zwischen 65 und 85%. Mit Hilfe eines eingebauten Ventilators wurde die Luft in regelmäßigen Abständen gut durchmischt. Nach Verschließen des Behälters erfolgte der Einstrom von CO_2 unter Benutzung eines geeichten Strömungsmessers bei laufendem Ventilator. Kontrolle der Behälterluft durch häufige CO_2- und O_2-Analysen im HALDANE-Apparat. Ein Absinken des O_2-Gehaltes unter 19% und ein Ansteigen des CO_2 im Laufe des Versuches wurde durch mäßiges Einströmen von Frischluft bzw. O_2 in länger dauernden Versuchen vermieden. Die Dauer der Versuche schwankte zwischen 2 und 6 Stunden. Am Ende des Versuches Entblutung der Tiere im Behälter. Danach Präparation der Muskeln, in mehreren Fällen auch des Herzens und der Leber.

Nach sorgfältiger Entfernung von Fett- und Bindegewebe Einwiegen der zerkleinerten Gewebe in vorbereitete Porzellantiegel. Wie bereits früher beschrieben (s. MALORNY und NETTER[11]), wurden die etwa 7 g Frischsubstanz enthaltenden Tiegel mit je 2 cm³ gesättigter Barytlösung und die 1 cm³ Vollblut enthaltenden Tiegel mit je 1 cm³ der Barytlösung beschickt und für 48 Stunden in einen elektrischen Trockenschrank bei 110° C gesetzt. Erfahrungsgemäß war dann Gewichtskonstanz erreicht. Vor der Bestimmung des Trockengewichtes wurden die Tiegel, um abzukühlen, für eine Stunde in einen Exsikkator gestellt.

Die Veraschung der Blut- und Gewebsproben wurde im elektrischen Muffelofen vorgenommen. Wegen des Barytzusatzes traten Cl-Verluste nicht auf. Die feuchte Veraschung mit Salpetersäure und Perhydrol bot gemäß früher gemachter Erfahrungen keine Vorteile und wurde darum verlassen. Die Temperatur wurde langsam von 220° C bis auf 580° C erhöht und die Veraschung so lange fortgesetzt, bis die Blutasche rötlichweiß und die Muskelasche grauweiß war. Die Temperatur von 580° C wurde, um Mineralverluste zu vermeiden, tunlichst nicht überschritten.

Die chemische Aufarbeitung der Organ- und Blutproben erfolgte im wesentlichen wie früher beschrieben. In der Blutasche wurden Na und Cl bestimmt, in der Gewebsasche Na, K und Cl. Die Bestimmung des K wurde mit gutem Erfolg nach Netter wie folgt durchgeführt: Nach Versetzen der Gewebsasche mit etwas H_2O und 4 Tropfen konz. HNO_3 wurde die Asche quantitativ in ein 10 cm^3-Kölbchen überführt, auf 10 cm^3 aufgefüllt und gut durchmischt. 1 cm^3 davon wurde sodann für die K-Bestimmung abgezweigt, in ein neues 10 cm^3-Kölbchen gebracht, mit 3 Tropfen einer gesättigten Na_2SO_4-Lösung zwecks Fällung des überschüssigen Ba versetzt und auf 10 cm^3 aufgefüllt. Nach kurzem Erhitzen wurde der Niederschlag absitzen gelassen. Entnahme von je 2 cm^3 für die K-Bestimmung nach Kramer-Tisdall. Der mittlere Fehler bei der K-Bestimmung betrug in sechs getrennt analysierten Proben eines einheitlichen Muskelbreies in Milligrammprozent K 363 $\pm$ 2,35. — Von den restlichen 9 cm^3 der Ausgangslösung wurden dann zweimal je 1 cm^3 für die Cl-Titration nach Volhard entnommen. Die restliche Flüssigkeit wurde nach Fällung der überschüssigen Ag- und Ba-Ionen, sowie der Phosphate und Sulfate für die Fällung des Na als Na-Uranylzinkazetat vorbereitet und auf diese Weise das Na gravimetrisch bestimmt. Elektrolytbestimmungen im Serum: Na nach Folling, K und Ca nach Kramer-Tisdall, Cl nach Ruszniak (Volhardsches Prinzip).

Ergebnisse.

I. Änderungen im Mineralbestand und Wasserhaushalt des Blutes und des Serums.

Die Voraussetzung für die Beurteilung der Gewebsvorgänge nach CO_2-Einwirkung ist die genaue Kenntnis der Blutveränderungen. Zwar können diese Veränderungen in mathematisch faßbarer Form nur bei CO_2-Belastung des isolierten Blutes gewonnen werden, wo die verwischenden Ausgleichsbestrebungen der Gewebssäfte und Organe in Fortfall kommen. Die Verhältnisse im isolierten System des Blutes wurden schon vor längerer Zeit auf breiter Grundlage in recht befriedigender Weise klargestellt. Bei unserer Fragestellung kam es uns im wesentlichen darauf an, unter Ausnutzung der bereits bekannten Vorgänge die Rückwirkungen des CO_2-belasteten Säure-Basenhaushaltes des Blutes auf die Gewebsreaktion aufzudecken. Dabei mußten die Transportleistungsfunktionen der Körpersäfte und die in den Dienst der Osmoregulation gestellten Wasserverschiebungen in gleicher Weise wie die reaktionsregulierenden Wirkungen des Blutes auf die Gewebe Berücksichtigung finden. Offenbar hatten methodische Gründe es bisher verhindert, die gewebseigenen Pufferungsleistungen der einzelnen Organe samt ihren Rückwirkungen auf die Körpersäfte beim intakten Organismus zu untersuchen.

1. Verhalten der Quotienten Na/Cl und K/Ca.

Zwingt man den tierischen Organismus CO_2-haltige Luft einzuatmen, so kommt es schon bei den niederen CO_2-Spannungen von 20—30 mm Hg trotz aller Kompensationsversuche des Körpers, die sich besonders in Form einer Erhöhung der Atemfrequenz und -tiefe äußern, zu einer Vermehrung der physikalisch gelösten und vor allem chemisch gebundenen Kohlensäure. Hierbei macht sich die chemische Bindung im stärkeren Grade in den Blutkörperchen als im Plasma bemerkbar, indem das Hämoglobin seine größeren Basenbestände für die Bikarbonatbildung bereitstellt. Die auch im Plasma nachweisbare Bikarbonatvermehrung tritt demgegenüber ganz zurück. Eine Störung des DONNAN-Gleichgewichtes, das für die zur Permeation befähigten Anionen des Systems Blutkörperchen/Plasma volle Gültigkeit hat, ist die unvermeidbare Folge. Als erstes Phänomen beobachtet man einen Übertritt von Bikarbonat ins Plasma. Aus Gründen der Erhaltung der elektrostatischen Neutralität wechselt nun eine bestimmte, allerdings nicht volläquivalente Menge an Cl-Ionen, wie sich aus dem zweiten, zu besprechenden Phänomen ohne Zwang ergibt, aus dem Plasma in die Erythrozyten über. Durch die verstärkte Bikarbonatbildung in den Blutzellen entsteht nämlich im System ein osmotisches Ungleichgewicht. Es wird ausgeglichen durch einen Wasserstrom aus dem Plasma in die Zellen. Die hieraus resultierenden Folgen für den Kolloiddruck des Serums sollen in einem späteren Abschnitt besprochen werden.

Die Anionenaustauschvorgänge lassen sich bis zu einem gewissen Grade auch aus den hier gewonnenen Ergebnissen erkennen (Tabelle 2 bis 5). Bei allen in Versuch genommenen Tierarten kommt es *im Serum zu Cl-Verlusten*, wie die gemittelten Werte erweisen*. Hierbei spielen die verschiedenen, zur Anwendung gekommenen CO_2-Konzentrationen nur eine untergeordnete Rolle. *Maßgebend* für die Beurteilung der Cl-Bewegungen ist das *Verhalten der Na/Cl-Quotienten*. Je höher der Quotient, um so mehr Bikarbonat ist vorhanden. Ein Anstieg des Quotienten ist gleichbedeutend mit einem Cl-Schwund bzw. einem Alkalieinstrom. Das Ansteigen des Serum-Cl in einigen Fällen (s. besonders Tabelle 3) ist hervorgerufen durch einen stärkeren Einstrom salzhaltiger, eiweißarmer Gewebsflüssigkeit. Bei diesen Versuchen ist der Na-Gehalt des Serums im Verhältnis zum Cl stärker angestiegen**.

* Instruktiver als die Erörterung der Mittelwerte wäre zwar die eingehende Würdigung der Einzelversuche. Dies ist jedoch aus Raumersparnisgründen meistens nicht möglich gewesen.

** In den Einzelwerten, wo der Na/Cl-Quotient im Serum einen Abfall zeigt, sind bei der Plasmagewinnung offenbar stärkere CO_2-Verluste aufgetreten. Ein solches Vorkommnis bleibt wegen der raschen Rückläufigkeit der Ionenbewegungen erfahrungsgemäß nicht ohne Folgen für das Serum-Cl.

Tabelle 2. *Mineralverschiebungen im Blut und Serum bei niederen CO_2-Konzentrationen.*

Nr.	CO_2 in Vol.-%	Zeit in Min.		Serum (mg-%)					Vollblut (mg-%)			Alkalireserve *
				K	Ca	Na	Cl	Na/Cl	Na	Cl	Na/Cl	
			a) Versuche an Kaninchen.									
2	4,5—7,0	360	vorher	14,1	12,5	345	393	0,878	185	290	0,638	36,7
			nachher	29,1	9,9	311	335	0,928	156	269	0,580	33,8
3	3,2—4,3	270	vorher	11,3	13,1	338	420	0,805	257	300	0,857	40,4
			nachher	21,1	13,5	338	428	0,790	209	309	0,676	49,2
4	2,9—3,2	195	vorher	10,5	12,0	329	417	0,789	203	275	0,738	48,5
			nachher	31,2	6,9	360	408	0,882	241	309	0,780	58,1
5	4,5—4,8	165	vorher	15,3	11,1	357	397	0,899	199	285	0,698	40,9
			nachher	20,0	10,8	363	467	0,777	205	266	0,771	48,5
6	5,2—5,0	155	vorher	15,9	9,2	367	424	0,866	188	274	0,686	37,6
			nachher	16,8	9,0	365	404	0,904	187	265	0,706	50,7
12	1,8—2,3	180	vorher	10,7	13,5	239	397	0,602	186	299	0,622	39,7
			nachher	13,4	12,2	284	444	0,640	203	309	0,657	43,4
Mittelwerte			vorher	13,0	11,9	329	408	0,807	203	287	0,707	40,6
			nach CO_2	21,9	10,4	337	414	0,820	200	288	0,695	47,3
			b) Versuche an Katzen.									
2	3,9—3,4	340	vorher	10,7	10,3	360	496	0,726	31 9	360	0,886	28,9
			nachher	24,5	8,9	371	429	0,865	292	368	0,794	33,6
3	4,3—3,2	350	vorher	15,1	7,7	349	410	0,951	294	373	0,788	31,6
			nachher	18,1	7,3	344	408	0,843	272	375	0,725	30,7
4	4,1—4,6	255	vorher	14,0	10,0	355	501	0,709	297	375	0,792	32,0
			nachher	22,8	8,5	353	487	0,725	301	368	0,818	41,2
6	2,9	195	vorher	14,9	10,5	360	475	0,758	288	365	0,789	23,5
			nachher	18,9	10,0	354	472	0,750	305	374	0,816	31,6
8	3,5—4,3	180	vorher	21,7	9,1	365	507	0,720	302	410	0,737	24,5
			nachher	21,3	9,7	360	453	0,795	315	360	0,875	32,6
9	3,5—4,3	165	vorher	18,1	11,5	362	433	0,836	315	383	0,822	28,5
			nachher	23,1	11,7	370	445	0,832	305	378	0,807	32,5
Mittelwerte			vorher	15,8	9,9	359	470	0,767	303	378	0,802	28,8
			nach CO_2	21,5	9,4	359	449	0,802	298	371	0,806	33,7

Dieser „Salzeinstrom" aus der Peripherie wird im allgemeinen in stärkerem Grade nur bei der schweren CO_2-Vergiftung beobachtet, indem es hier zu einer ziemlich stark ausgeprägten Hydrämie kommt. Im Gegensatz zu den Untersuchungen am intakten Organismus ist bei den Versuchen in vitro ein Cl-Anstieg im Plasma niemals möglich.

Bei der Bewertung der Na- und Cl-Veränderungen im Vollblut ist zu berücksichtigen, daß in allen Fällen die Trockensubstanz des Blutes abnimmt. Die Abnahmen sind im wesentlichen auf eine Verminderung der Erythrozytenzahl zurückzuführen. Dieser Vorgang

* Saturation bei 40 mm CO_2-Druck, abzüglich der physikalisch gelösten Kohlensäure.

Tabelle 3. *Akute Vergiftung durch hohe CO_2-Konzentrationen.*

Nr.	Vol-% CO_2		Serum (mg-%)					Vollblut (mg-%)			Alkalireserve	Gesamt-CO_2
			K	Ca	Na	Cl	Na/Cl	Na	Cl	Na Cl		
a) Versuche an Hunden (Dauer der CO_2-Einwirkung etwa 2 Stunden).												
10	26,5	vorher	23,0	9,7	357	412	0,867	308	333	0,925	43,7	46,4
		nachher	23,2	9,8	367	433	0,847	320	386	0,829	30,5	48,2
11	26,0	vorher	16,3	9,9	358	429	0,835	258	333	0,775	31,4	34,1
		nachher	19,0	11,0	390	443	0,880	274	365	0,752	21,5	31,3
14	25,4	vorher	19,9	7,3	333	413	0,806	303	344	0,881	27,3	30,0
		nachher	20,3	8,9	365	454	0,804	334	355	0,941	22,1	35,0
15	25,1	vorher	18,2	8,3	345	453	0,762	319	365	0,875	32,1	34,8
		nachher	19,3	9,5	356	483	0,738	302	319	0,947	23,5	32,5
16	33,4	vorher	17,5	8,0	330	437	0,755	313	331	0,946	40,6	43,3
		nachher	22,7	7,9	365	440	0,829	307	319	0,962	35,9	46,9
17	31,7	vorher	16,9	8,2	321	440	0,730	305	330	0,924	44,6	47,3
		nachher	18,5	8,8	346	449	0,770	304	365	0,833	31,6	—
Mittelwerte		vorher	18,6	8,56	341	431	0,793	301	339	0,888	36,6	
		nach CO_2	20,5	9,3	365	450	0,811	307	352	0,877	27,5	
b) Versuche an Kaninchen (Dauer etwa 3 Stunden).												
13	9,9—11,4	vorher	—	11,7	—	416	—	213	294	0,725	43,5	
		nach CO_2	—	11,4	—	396	—	228	309	0,738	42,9	
14	10,6—10,7	vorher	14,1	9,2	241	408	0,591	252	326	0,773	45,9	
		nach CO_2	13,5	10,4	338	399	0,847	264	307	0,860	46,5	
15	10,6—10,7	vorher	13,7	14,2	321	408	0,787	250	368	0,679	38,2	
		nach CO_2	14,2	14,3	310	396	0,777	238	340	0,700	38,4	
16	11,1—11,5	vorher	13,3	12,1	323	372	0,868	198	274	0,723	37,2	
		nach CO_2	13,6	12,0	306	404	0,757	220	288	0,785	39,1	
Mittelwerte		vorher	13,7	11,8	295	396	0,739	228	316	0,725	41,2	
		nach CO_2	13,8	12,2	318	400	0,794	239	311	0,771	41,7	

ist teilweise bereits durch den Aderlaß bedingt, zum Teil aber auch als spezifischer CO_2-Einfluß im Sinne der Herbeiführung einer Hydrämie zu deuten. Bei der schweren CO_2-Vergiftung, wo die stärksten Trockengewichtsverminderungen zu verzeichnen sind, spielt der Einstrom eiweißfreier Zellflüssigkeit die größere Rolle. Da die Hämatokritwerte und die Erythrozytenzahlen nur in einigen Fällen ermittelt wurden, kann eine genaue Berechnung der Cl-Zunahme in den Blutkörperchen nicht für die Gesamtergebnisse durchgeführt werden. Es sei nur darauf hingewiesen, daß in den genauer untersuchten Fällen eine annähernde Äquivalenz der Cl-Bewegungen bei Berücksichtigung der Wasserverschiebungen festzustellen ist. Jedenfalls ist die Verminderung der Erythrozytenzahl der Hauptgrund dafür, daß die Cl-Zunahmen im Blut verhältnismäßig gering zu sein scheinen. Der Hydrämieeffekt wird durch die Volumenzunahme der Blutkörperchen infolge der osmotischen Schwellung bei den niederen

CO_2-Spannungen recht gut, bei den höheren hingegen fast gar nicht kompensiert. Wie Tabelle 2 zeigt, nimmt der Na-Gehalt des Gesamtblutes bei den niederen CO_2-Spannungen ein wenig ab. Wenn man das oben Gesagte berücksichtigt und gleichzeitig annimmt, daß das Cl vorwiegend dem Na zugeordnet ist, so treten die Cl-Zunahmen im Blut deutlicher in Erscheinung. Dies äußert sich in einer Abnahme des Na/Cl-Quotienten. Die Abnahme ist meist geringer als die entsprechende Zunahme im Serum; sie kann auch ganz fehlen.

Die Verminderung der roten Blutkörperchen läßt im übrigen auch die Na-Abnahmen im Gesamtblut nicht so stark hervortreten. Reduziert man den mittleren Serum-Na-Wert in Tabelle 2 a auf den Ausgangswert, so würde der entsprechende Cl-Wert gleichsam auf 401 mg-% abgesunken sein, unter dem Einfluß höherer CO_2-Konzentrationen (Tabelle 3b) bei der gleichen Tierart sogar auf 371 mg-% Cl. Im Blut würde der Cl-Wert bei den niederen CO_2-Konzentrationen (Tabelle 2a) nach Reduktion auf den Blut-Na-Ausgangswert, was wegen der Trockengewichtsabnahme nur mit Einschränkung zulässig ist, auf 292 mg-% gestiegen sein, d. h. bei entsprechender Berücksichtigung der Blutkörperchenverminderung eher noch höhere Werte erreicht haben.

Auch aus den Tabellen 4 und 5 sind ähnliche Verschiebungen der Bluthauptelektrolyte Na und Cl zu ersehen.

Tabelle 4. *Wirkungen verschiedener CO_2-Konzentrationen bei Hunden.*

Nr.	Vol.-% CO_2	Zeit in Min.		Serum (mg-%)					Vollblut (mg-%)			Alkalireserve
				K	Ca	Na	Cl	Na/Cl	Na	Cl	Na/Cl	
a) Versuche mit niederen CO_2-Konzentrationen.												
1	—	—	vorher	15,0	9,05	344	422	0,815	232	289	0,803	35.2
	5,7	240	während	20,4	8,95	349	432	0,809	216	286	0,757	36,5
	6,1—7,2	120	nachher	22,4	9,05	375	432	0,869	246	311	0,791	38,5
2	—	—	vorher	15,1	8,84	348	441	0,788	289	332	0,870	33,1
	5,8—8,5	255	während	25,1	9,53	365	417	0,875	—	—	—	37,6
	6,8	120	nachher	25,4	8,23	361	441	0,818	295	344	0,858	36,3
Mittelwerte			vorher	15,1	8,95	342	432	0,802	261	311	0,837	34,2
			während	22,7	9,24	357	425	0,840	—	—	—	37,1
			nach CO_2	23,9	8,64	368	437	0,844	271	328	0,825	37,4
b) Versuche mit niederen (I) und (II) höheren CO_2-Konzentrationen.												
3	—	—	vorher	22,0	8,4	365	486	0,751	319	365	0,874	32,6
	5,1	110	nach CO_2 I	24,3	9,3	367	488	0,752	324	378	0,857	38,2
	11,7	135	nach CO_2 II	20,2	8,8	363	454	0,800	318	387	0,822	—
5	—	—	vorher	24,2	11,0	361	428	0,844	278	311	0,894	26,4
	3,0—4,1	150	nach CO_2 I	25,4	11,0	366	424	0,863	275	295	0,932	33,1
	—	90	n. Erholung	23,7	11,4	364	434	0,839	258	288	0,896	31,3
	11,8	165	nach CO_2 II	30,8	10,9	345	424	0,814	254	313	0,812	—
9	—	—	vorher	16,0	9,6	357	471	0,758	275	298	0,923	37,9
	5,2	130	nach CO_2 I	16,5	10,1	386	427	0,904	280	323	0,867	40,9
	14,3	120	nach CO_2 II	14,4	11,2	379	471	0,805	286	331	0,864	36,4
Mittelwerte			vorher	20,7	9,7	361	462	0,784	291	325	0,897	32,3
			nach CO_2 I	22,1	10,1	373	446	0,840	293	332	0,885	36,7
			nach CO_2 II	21,8	10,3	362	450	0,806	286	344	0,833	—

Tabelle 5. *Reversibilität der Elektrolytverschiebungen bei Hunden nach Erholung von der CO_2-Einwirkung.*

Nr.	Vol.-% CO_2	Zeit in Min.		Serum (mg-%) K	Ca	Na	Cl	Na/Cl	Vollblut (mg-%) Na	Cl	Na/Cl	Alkalireserve
			a) Nach Einwirken niederer CO_2-Konzentrationen.									
4	—	—	vorher	17,5	8,8	341	487	0,700	270	343	0,787	45,1
	4,7—6,4	195	nach CO_2	16,3	8,7	344	468	0,735	280	330	0,849	48,9
		160	n. Erholung	15,1	8,6	341	466	0,732	291	329	0,885	47,3
7	—	—	vorher	16,0	11,7	—	—	—	295	317	0,931	29,4
	5,9—7,3	150	nach CO_2	20,0	11,3	—	—	—	301	355	0,848	30,9
	—	150	n. Erholung	18,8	11,3	—	—	—	291	330	0,882	27,8
8	—	—	vorher	20,5	12,5	335	475	0,705	276	337	0,819	31,1
	5,3—6,4	180	nach CO_2	25,6	10,6	340	425	0,800	253	319	0,793	26,7
	—	120	n. Erholung	23,0	14,4	356	452	0,788	262	301	0,868	28,2
Mittelwerte			vorher	18,0	11,0	338	481	0,702	280	332	0,846	35,2
			nach CO_2	20,6	10,2	342	447	0,768	278	335	0,830	35,5
			n. Erholung	19,0	11,4	348	459	0,760	281	320	0,878	34,4
			b) Nach Einwirkung hoher CO_2-Konzentrationen.									
12	—	—	vorher	16,5	7,0	338	432	0,783	267	309	0,864	24,2
	23,0	90	nach CO_2	17,5	7,4	344	419	0,820	262	281	0,933	17,2
	—	180	n. Erholung	17,8	7,1	354	423	0,837	281	294	0,955	31,4
15	—	—	vorher	18,2	8,3	345	453	0,761	319	365	0,875	32,1
	25,1	90	nach CO_2	19,3	9,5	356	483	0,738	302	319	0,947	23,5
	—	135	n. Erholung	16,8	7,7	359	481	0,747	303	362	0,837	34,7
16	—	—	vorher	17,5	8,0	330	437	0,756	313	331	0,946	40,6
	33,4	105	nach CO_2	22,7	7,9	365	440	0,829	307	319	0,962	35,9
	—	150	n. Erholung	16,9	8,3	350	404	0,867	340	305	0,897	40.9
Mittelwerte			vorher	17,4	7,8	338	440	0,767	300	335	0,895	32,3
			nach CO_2	19,8	8,3	355	447	0,796	290	306	0,947	25,5
			n. Erholung	17,2	7,7	354	436	0,817	308	320	0,896	35,7

Wie aus den Tabellen zu entnehmen ist, zeigen die *Na/Cl-Quotienten des Serums und des Blutes ein gegensätzliches Verhalten.* Dies ist wegen der Cl-Bewegungen innerhalb des Blutes zu erwarten. Aber auch das *Na* trägt, wie schon angedeutet, durch die *Tendenz zur Verminderung im Vollblut*, besonders bei den niederen CO_2-Spannungen hierzu seinen Teil bei. Nur spielen sich die Na-Veränderungen nicht im System Plasma/Blutkörperchen ab. Vielmehr tritt das *Na in funktionellen Austausch zum Muskel*, wie noch zu zeigen sein wird. Das Blut-Na zeigt in den einzelnen Versuchen zum Teil erhebliche Streuungen der Werte. Darum ist die Annahme berechtigt, daß das Blut nur als Na-Zwischenträger fungiert, indem es das Na aus den Organdepots, in erster Linie aus den inneren Organen und eventuell auch aus der Haut, in die Muskulatur überträgt.

Je nachdem, ob z. B. die Leber schneller Na abgibt oder der Muskel es schneller aufnimmt, wird das Na im Blut am Ende des Versuches erhöht oder erniedrigt gefunden. Gesetzmäßigkeiten lassen sich nicht nachweisen. Rechnet man z. B.

die Unterschiede für die niederen CO_2-Konzentrationen in Millimol aus, so findet man für das Kaninchenblut nach Umrechnung auf den Cl-Ausgangswert einen unbedeutenden Na-Abfall von 1,6 mMol/l (Tabelle 2), in den Hundeversuchen einen solchen von 6,5 mMol/l (Tabelle 4 und 5, 8 Versuche). Bei der Katze findet man keinen Abfall, sondern einen innerhalb der Fehlerbreite liegenden Anstieg von 0,5 mMol/l. Beachtenswert ist, daß bei hohen CO_2-Spannungen (Tabelle 3) der Na-Gehalt des Blutes fast regelmäßig zunimmt. Dies ist einmal auf die starke Na-Zunahme des Serums im Gefolge der Hydrämie und der hierdurch bedingten Abnahme der zellulären Blutelemente, zum anderen aber vor allem auf die rückläufigen Na-Bewegungen in der Muskulatur im Sinne einer Abschwemmung des Na aus den Membrandepots des Muskels zurückzuführen.

Bei allen funktionellen Änderungen in einem System des Körpers ist die Beantwortung der Frage, ob die gesetzten *Erscheinungen nach Beendigung der Zufuhr* des einwirkenden Stoffes *reversibel* sind, von besonderer Wichtigkeit. Für die Kohlensäure ist diese Frage, sogar nach Anwendung sehr hoher Konzentrationen (Tabelle 5) zu bejahen. Dies war wegen ihrer hohen Diffusionsgeschwindigkeit durch wäßrige und lipoide Phasen und wegen ihrer physiologischen Bedeutung als Reaktionsregulator im besonderen und als Stoffwechselendprodukt im allgemeinen zu erwarten. In den vorliegenden Versuchen war, um sicher zu gehen, die Erholungszeit auf 2—3 Stunden ausgedehnt worden. Jedoch hätten hierfür wahrscheinlich bereits wenige Minuten genügt. Wissen wir doch, wenigstens für den physiologischen Bereich, schon seit längerer Zeit, daß während eines einzigen Blutumlaufes meßbare Cl'—HCO_3'-Verschiebungen im venösen Kapillargebiet des Gewebes auftreten, die dann bei der Arterialisierung in der Lunge wieder rückgängig gemacht werden. Wie die Tabelle 5 erweist, zeigt sich bei den Elektrolyten eine ausgeprägte Tendenz zur Rückläufigkeit. Besonders wichtig ist die Feststellung, daß auch das Serum-K diese Bewegungen mitmacht, da auf diese Weise auch die K-Veränderungen als CO_2-bedingt veranschaulicht werden.

Die Untersuchung des K und Ca im Serum unter CO_2-Einfluß versprachen einen besonderen Beitrag zur Klärung der Mineralverschiebungen zwischen Blut und Geweben.

Überraschenderweise war in allen Versuchen mit niederen CO_2-Konzentrationen ein weit außerhalb der Fehlergrenze liegender *Anstieg des K* festzustellen (Tabelle 2, 4 und 5). Er war um so deutlicher, je niedriger der Ausgangswert lag*. In den Hundeversuchen

* Zahlreiche Doppelbestimmungen und gleichzeitig durchgeführte Menschenserumanalysen mit ihren höheren K-Werten bewiesen, daß nicht methodische Fehler die Ursache der niedrigen K-Werte waren. Möglicherweise kamen als Grund für diesen Befund die besonderen klimatischen Verhältnisse oder die Beschaffenheit des Futters in Frage. Im übrigen stellten auch Catell, McKeen und H. Civin[14] fest, daß gerade bei Katzen der Schwankungsbereich für das Serum-K schon normalerweise recht hoch ist (10—30 mg-% K).

war der K-Anstieg nicht so stark ausgeprägt. Hier lagen die Ausgangswerte höher. Die K-Werte stiegen nach Einwirkung niederer CO_2-Spannungen bei den Kaninchen von 3,3 auf 5,6 mMol/l an, bei den Katzen von 4,0 auf 5,5 mMol/l und bei den Hunden von 4,7 auf 5,6 mMol/l. Die mittleren K-Anstiege erreichten somit bei allen Tieren bei ungefährer Gleichheit hinsichtlich Versuchszahl, Versuchsdauer und angewandter CO_2-Konzentration überraschend gleichmäßige Werte.

Die K-Steigerung im Serum ist als Kohlensäureeffekt im Sinne einer Veränderung der vegetativ-nervösen Reaktionslage aufzufassen. Hierbei scheint die durch CO_2 bedingte Bikarbonatvermehrung von größerer Bedeutung zu sein als die Erhöhung der H^+-Konzentration. Kommt es nämlich durch Zufuhr höherer und hoher CO_2-Mengen zu einem beachtlichen Anstieg der H^+-Zahl, die von einer Verminderung der Alkalireserve begleitet ist, so bleibt die K-Vermehrung aus (Tabelle 3).

Die genannten Befunde sind für die Deutung des K-Verhaltens von Wichtigkeit.

Zunächst sollen die Einflüsse besprochen werden, die einen K-Anstieg im Serum hervorrufen. Sie können recht verschiedenartiger Natur sein. So treten K-Erhöhungen auf bei hormonalen Störungen, bei Ermüdungszuständen, im Histaminschock, bei schweren Durchblutungsstörungen, Aderlässen, O_2-Mangelzuständen und überhaupt bei allgemeiner Asphyxie. Ganz allgemein deutet eine K-Erhöhung im Plasma auf eine gesteigerte nervöse Erregbarkeit hin. Sie ist häufig als Ausdruck einer vagotonen Reaktionslage zu werten. Weniger zahlreich sind die Beobachtungen einer Senkung des Plasma-K. Ihr Auftreten wird z. B. während der Inhalationsnarkose beschrieben oder nach dem Einwirken von Adrenalin im Anschluß an eine vorübergehende Steigerung.

Bei der Beurteilung der K-Steigerung ist die Klärung zweier grundsätzlicher Fragen von Bedeutung.

1. Vermag die Blutentnahme vor der CO_2-Einwirkung, die gemäß der Versuchsanordnung notwendig war und die bei den kleineren Versuchstieren, wie Kaninchen und Katzen, immerhin einen Wert bis zu 8% der Gesamtblutmenge ausmachen konnte, in ausreichendem Maße den K-Anstieg im Serum zu erklären? Hierfür spricht zunächst, daß in einem unserer Kontrollversuche das Serum-K am Ende des Versuches aus nicht ganz geklärten Gründen erhöht war, ferner daß von einer Reihe von Untersuchern, wie THALER[15], FENN, WILDE und KOENEMANN[16], bei allerdings stärkeren Aderlässen eine K-Vermehrung gefunden wurde. Dies sind aber keine bündigen Beweise gegen die Annahme einer CO_2-bedingten K-Zunahme. Für die Richtigkeit unserer These spricht einmal die Reversibilität der K-Bewegungen in den Erholungsversuchen, zum anderen das Ausbleiben des K-Anstiegs bei der schweren CO_2-Vergiftung. Außerdem dürfte die Mobilisation der Blutdepots als Teilfolge der CO_2-Wirkung imstande sein, einen etwaigen Aderlaßeffekt zu kompensieren. Zudem ist bei stärkeren Aderlässen der Milchsäuregehalt des Blutes stets erhöht.

2. Ist die K-Vermehrung im Serum insofern als CO_2-bedingt aufzufassen, als unter dem Kohlensäureeinfluß die Hämolysebereitschaft der Erythrozyten erhöht wird? Durch diese Art der Fragestellung wird bereits ein anderes Problem angeschnitten: Die Frage nach der Herkunft des K im Serum.

Zur Erläuterung der Frage über eine Steigerung der Hämolysebereitschaft muß zunächst auf das Verhalten des K/Ca-Quotienten in den vorliegenden Versuchen näher eingegangen werden. Die Gegenschaltung des K und Ca ist schon seit langem bekannt. Wahrscheinlich sind kolloidchemische Gründe hierfür anzunehmen. Steigt das K, so sinkt der Ca-Gehalt, und umgekehrt. Das gegensinnige Verhalten des Ca wird auch hier beobachtet, wenn es auch bei weitem nicht so ausgeprägt war, wie das Ansteigen des K. Die Errechnung der Relation K/Ca sei in Abweichung von der sonstigen Gepflogenheit nicht nach den ermittelten Analysenwerten, sondern nach Umrechnung in Millimol angegeben, da auf diese Weise das Verhältnis der beiden Ionenarten zueinander genauer übersehen werden kann. Der Fehler bei Gegenüberstellung der prozentischen Ergebnisse fällt wegen des geringen Atomgewichtsunterschiedes im übrigen nicht nennenswert ins Gewicht. Der K/Ca-Quotient zeigt bei den Kaninchen den sehr bemerkenswert starken Anstieg von 1,12 auf 2,15, bei den Katzen von 1,64 auf 2,35. In den Hundeversuchen steigt der Quotient von 1,88 auf 2,32. Das geringgradigere Ansteigen des Quotienten beim Hund ist auf den höheren K-Ausgangswert im Serum zurückzuführen.

Ganz allgemein verringert sich bei einem Anstieg des K/Ca-Quotienten die Wirksamkeit des $Ca^{\cdot\cdot}$, indem das $K^{\cdot}$ das Übergewicht erhält. Damit kommt die membrandichtende Wirkung des $Ca^{\cdot\cdot}$ immer mehr in Wegfall. Es entsteht ziemlich schnell eine Art Hämolysebereitschaft. Als Beweis hierfür führt Mac Callum[17] an, daß höhere Ca-Konzentrationen die Saponinhämolyse hemmen. Nach Loewy[18] kommt es bei Kohlensäurestauung im Blut zu einer Verminderung der Erythrozytenresistenz, später sogar zu Hämoglobinaustritt. Es bestünde demnach die Möglichkeit, daß die beobachtete Erhöhung des K-Spiegels beim Kaninchen durch eine Schädigung der Erythrozytenmembran hervorgerufen sein könnte und das K somit den Erythrozyten entstammen würde. Da aber auch bei Katze und Hund, deren Erythrozyten praktisch K-frei sind, das Serum-K ansteigt, scheiden die Blutkörperchen als Quelle für die K-Vermehrung im Serum aus. Aber auch die Muskulatur kommt, wie noch gezeigt werden soll, als K-Lieferant nicht in Frage, wohl dagegen bis zu einem gewissen Grade die Leber (nähere Einzelheiten hierüber siehe später).

Inwieweit die Kationenveränderungen des Blutes bzw. des Serums Rückwirkungen auf den Mineralbestand des Muskels und anderer Gewebe ausüben, können nur die Gewebsanalysen erweisen. Hierbei werden der prozentische Gewebsflüssigkeitsanteil, die Wasserverschiebungen und der Einfluß der veränderten aktuellen Reaktion besonders zu berücksichtigen sein.

2. Verhalten der Alkalireserve und Milchsäure im Blut. Beziehungen zur Gewebsreaktion.

Bei Erhöhung der CO_2-Spannung in der Atmungsluft kommt es zu einer zunehmenden CO_2-Retention im Blut und Gewebe. Während die Zunahme an physikalisch gelöstem CO_2 weitgehend den Löslichkeits-

gesetzen gehorcht und nur abhängig vom Salz- und Eiweißgehalt der Lösung ist, zeigt die chemische Bindung als Bikarbonat eine klare Abhängigkeit vom Pufferungsvermögen des Substrates. Ist die Pufferungskraft groß, so werden zunächst nur sehr geringe Änderungen der aktuellen Reaktion auftreten. Die drohende Azidose wird kompensiert, indem die Alkalireserve wächst. Durch steigendes CO_2-Angebot wird die Bindungsfähigkeit infolge fortgesetzter Alkaliabgabe mehr und mehr beansprucht. Hält die Alkaliabgabe mit der ansteigenden CO_2-Spannung nicht Schritt, so tritt eine p_H-Verschiebung nach dem Sauren ein.

Die CO_2-Aufnahmefähigkeit des Blutes ist größer als die des Gewebes.

So nahm nach Shaw und Messer [19] in Versuchen an der Katze das Blut im Vergleich zum Gewebe bei Berücksichtigung der Mengenverhältnisse mehr als doppelt so viel CO_2 auf. Im einzelnen entfielen hiernach 88,2% des aufgenommenen CO_2 auf das Gewebe und der Rest auf das Blut. Selbst unter Zugrundelegung eines 70%igen Wassergehaltes des Körpers blieb die CO_2-Kapazität des Gewebes unter der des Blutes. In einer späteren Arbeit prüften Shaw und Messer [20] das Verhalten der Alkalireserve des Blutes bei CO_2-Einwirkung und fanden bei einer alveolaren CO_2-Spannung von 88 mm einen Abfall der Alkalireserve. Sie erklärten dies durch eine Abwanderung von Bikarbonat ins Gewebe, während Eppinger [21] für den Abfall eine Verschiebung des Albumin-Globulinquotienten in Richtung der Globuline verantwortlich machte; nach seinen Untersuchungen zeigte nämlich die CO_2-Bindungskurve der Globuline einen deutlich flacheren Verlauf.

Die hohe CO_2-Kapazität des Blutes ist nicht auf den Plasmaanteil, sondern auf die roten Blutzellen zurückzuführen. Smith, Means und Woodwell [22] berechnen aus der arteriovenösen CO_2-Differenz für die Erythrozyten des venösen Blutes eine zehnfach höhere CO_2-Zunahme als für das entsprechende Plasma.

Von vielen Untersuchern sind p_H-Messungen des Blutes bei der experimentellen CO_2-Azidose angestellt worden. Die Befunde sind im großen und ganzen recht einheitlich. So stellte z. B. Eppinger [21] bei niederen CO_2-Konzentrationen von etwa 40 mm keine deutlicheren p_H-Verschiebungen fest, während bei hohen CO_2-Drucken von über 200 mm das p_H in Einzelfällen bis auf 6,97 absank. In den vorliegenden Untersuchungen wurden direkte p_H-Messungen im strömenden Blut nicht angestellt; wohl ließ sich aber in den Versuchen, wo auch die Alkalireserve des Plasmas und die CO_2-Tension genau bestimmt wurden, mit Hilfe der Henderson-Hasselbalchschen Gleichung für das Hundeserum das p_H berechnen. Die Werte wichen von den aus der Literatur bekannten nicht ab.

Hingegen ergaben die Untersuchungen über den CO_2-Einfluß auf die Alkalireserve des arteriellen Blutes in der bisherigen Literatur keine einheitlichen Befunde. Henderson und Haggard [23] beobachteten bei mittleren und auch bei höheren CO_2-Spannungen der Alveolarluft sowohl einen Anstieg des Gesamt-CO_2-Gehaltes als auch eine Erhöhung der CO_2-Kapazität des auf normale alveolare CO_2-Spannung gebrachten Blutes und erklärten dies durch einen kompensatorischen Übertritt von Alkali aus dem Gewebe in das Blut, ohne jedoch nähere Angaben über die Art des Gewebes zu machen oder Gewebsanalysen als Beweis für diese Annahme anzuführen. Shaw und Messer [20] und mit ihnen noch mehrere andere Untersucher wie Eppinger [21] sowie Goldberger und Rowinski [24] u. a. fanden einen Abfall der CO_2-Kapazität des arteriellen Blutes. Himwich, Gildea,

Rakieten und Delafield du Bois [25] versuchten die Diskrepanz als abhängig von der Zeit der CO_2-Einwirkung zu erklären.

Für die Richtigkeit der Auffassung, daß bei längerer Einwirkungsdauer die Alkalireserve des arteriellen Blutes ansteigt, sprechen auch die hier erhobenen Befunde, soweit es die niederen CO_2-Spannungen von 2—7 Vol.-% betrifft. Demgemäß erhöht sich die Alkalireserve bei den Kaninchen um 16,8%, bei den Katzen um 17%, im Blute des Hundes dagegen nur um 8,4% (s. Tabelle 2, 4 und 5). Bei den hohen CO_2-Konzentrationen kommt es in unseren Versuchen auch bei mehrstündiger Einwirkung zu einem Absinken der Alkalireserve. Läßt man auf Kaninchen 10—12 Vol.-% CO_2 einwirken, so zeigt die Alkalireserve keine Veränderung (Tabelle 3). Bei weiterer Erhöhung der CO_2-Konzentration auf 25—33 Vol.-% beobachtet man nach 2stündiger Einwirkung einen Abfall. Bei den Versuchen an Hunden beträgt er 25%, wie sich ebenfalls aus Tabelle 3 ersehen läßt.

Dieses Absinken beobachtet man jedoch nur, wenn man das Blut nach der CO_2-Vergiftung bei einer Spannung von 40 mm CO_2 saturiert und dann das physikalisch gelöste CO_2 in Abzug bringt. Fängt man hingegen das Blut in der CO_2-Atmosphäre unter Paraffin auf, so bestimmt man das Gesamt-CO_2. Die Werte hierfür sind in Tabelle 3 mit aufgeführt. Der Abfall wird dann vermißt.

In einigen Versuchen wurde auch die Alkalireserve im Serum bestimmt. Im Durchschnitt lagen die Ausgangswerte im Serum etwa um 21% höher als im Vollblut. Nach CO_2-Einwirkung stieg die Alkalireserve des Serums im Durchschnitt um 2,3% stärker an als die des Vollblutes. Der Alkalireserveanstieg ist hier im wesentlichen auf eine Basenfreimachung durch die Cl-Abwanderung in den Erythrozytenraum sowie auf eine Alkalivermehrung zurückzuführen. Auch die beobachtete Milchsäureabnahme muß hier wie auch im Vollblut den Alkalireserveanstieg verstärken.

Dem Anstieg der chemisch gebundenen Kohlensäure geht bei den niederen CO_2-Konzentrationen fast niemals eine Erhöhung des Na im Blut parallel. Hingegen erhöhte sich infolge der K-Zunahmen der Gesamtalkalibestand. Das zusätzlich aufgenommene HCO_3 wird außerdem zu einem großen Teil an die Basenäquivalente des entionisierten Hämoglobins und der Serumeiweißkörper gebunden. Desgleichen macht die noch näher zu besprechende Laktalverminderung Basen für die HCO_3-Bindung frei.

In diesem Zusammenhang muß auch an die Entstehung von Carb-Hämoglobin gedacht werden. Diese kann jedoch mit der Veränderung der Gesamtbasen erst dann in Zusammenhang gebracht werden, wenn gleichzeitig die Veränderung der Binnenwasserstoffionenkonzentration mitberücksichtigt wird. So viel kann aber wohl gesagt werden, daß bei p_H-Werten um 7,0, also bei der schweren

CO_2-Azidose jenseits einer Spannung von 100 mm CO_2, das Vorliegen von Carb-Hämoglobin als unwahrscheinlich abzulehnen ist.

Bei der Betrachtung der p_H-Regulation ist auch, wie bereits angedeutet, auf etwaige Änderungen der fixen Säuren im Blute ein Augenmerk zu richten. Als ihr wichtigster Vertreter ist die Milchsäure anzusehen.

In einigen Versuchen, die ich bereits im Jahre 1936 zur Klärung des Na-Verhaltens im Muskel anstellte *, wurde auch die Blutmilchsäure mitbestimmt. Es ließen sich aber unter dem Einfluß von 4—7 Vol.-% CO_2 in der Raumluft keine nennenswerten Veränderungen der Milchsäure feststellen; im besonderen kam es nicht zu einer Vermehrung. Vom Standpunkt der Regulationen aus betrachtet, würde ein Anstieg der Blutmilchsäure in CO_2-Atmosphäre die Gefahr der Azidose auch nur erhöhen. Ein solches Verhalten würde auch schwerlich mit dem beobachteten Alkalireserveanstieg in Einklang zu bringen sein. Dementsprechend wurde in den vorliegenden Versuchen eher die Tendenz einer Milchsäureerniedrigung beobachtet. Im Mittel von 5 Versuchen sank die Milchsäure von 0,0567% auf 0,0402% ab. Auch in Blutproben, die während der Versuche entnommen wurden, war sie erniedrigt.

Die hohen Milchsäureausgangswerte waren hier im wesentlichen als Urethaneffekt aufzufassen. Demnach dürfte die Milchsäureerniedrigung, die in den Versuchen fast 2 mMol/l betrug, im nichtnarkotisierten Zustande geringfügiger sein. Indessen ist ihr Vorhandensein für die Erklärung des Alkalireserveanstiegs von gewisser Bedeutung, insofern nämlich, als z. B. eine Milchsäureverminderung von 9 mg-% überschlagsmäßig gerechnet Basen für die Bindung von 2,5 Vol.-% CO_2 freimachen kann.

Diese damals mehr orientierungshalber erhobenen Befunde fanden in den ungefähr gleichzeitig durchgeführten Versuchen von HIMWICH und Mitarbeitern [25] insofern ihre Ergänzung, als hier außer der Milchsäure auch die anderen fixen Säuren trotz des absinkenden Blut-pH nach CO_2-Einwirkung unverändert blieben. Als Ergebnis dieser wichtigen Befunde ist festzustellen, daß die fixen Säuren des Gesamtblutes nicht ursächlich an den Schwankungen des Kohlensäurebindungsvermögens nach CO_2-Einwirkung beteiligt sind, abgesehen vielleicht von der Alkalireserveverstärkung durch den beschriebenen Milchsäureschwund. Ferner scheint die Alkalibasenaufnahme in den Muskel in CO_2-Atmosphäre offenbar nicht mit dem Verhalten der Milchsäure in Zusammenhang zu stehen. Über den Milchsäuregehalt des Blutes bei der schweren CO_2-Vergiftung kann mangels entsprechender Untersuchungen vorläufig nichts ausgesagt werden. Manches spricht für ein gegensätzliches Verhalten.

3. Der Kolloiddruck des Serums in Wechselbeziehung zu den Wasserverschiebungen des Körpers.

Unter dem Einfluß der Kohlensäure kam es in und zwischen den Systemen Blutkörperchen/Plasma, Plasma/Gewebsflüssigkeit und Gewebszellen/Gewebsflüssigkeit zu zum Teil beträchtlichen Wasserverschiebungen. Schon bei der Entblutung der Tiere nach Beendigung des Versuches fiel in zahlreichen Fällen eine erhebliche Vermehrung

* Die Versuche wurden im Institut für Physiologische Chemie und Physikochemische Medizin der Universität Kiel durchgeführt.

der zirkulierenden Blutmenge auf. Wesentlichen Anteil daran hatte die Mitbeteiligung des Kreislaufs. Brednow [23] beobachtete bei Einatmung von Luftgemischen mit einem CO_2-Gehalt bis 9 Vol.-% eine Vermehrung der gesamten zirkulierenden Blutmenge um 20—30%. Die Steigerung betraf in etwa gleichem Umfange den Plasma- und Blutkörperchenanteil.

Weitere Anhaltspunkte für das Auftreten von Veränderungen in allen drei Systemen ergaben die regelmäßig mitbestimmten Trockengewichte von Blut und Gewebe. Für das isolierte System des Blutes stellten schon vor langer Zeit H. Nasse [1] und später R. v. Limbeck [27] genaue Beobachtungen an. Bei der Betrachtung der CO_2-Wirkung am Ganztier mußten wegen der vasomotorischen Umstellungen und wegen der osmotischen Rückwirkungen des CO_2 auch auf die Gewebe und Gewebsflüssigkeiten neue Momente hinzutreten. Für die Ausarbeitung feinerer Unterschiede erschien die bloße Prüfung des Verhaltens der Trockensubstanz des Blutes unzureichend; denn das Trockengewicht fiel wegen Verminderung der zelligen Blutelemente stets mehr oder minder stark ab.

Einen näheren Einblick in die Verhältnisse versprach die Untersuchung des kolloidosmotischen Druckes im Serum. Zu diesem Zweck wurde das Serum nach dem Versuch von den Blutkörperchen abgetrennt. Die Bestimmungen wurden in Gemeinschaft mit H. A. Oelkers nach der Methode von Krogh und Nakazawa [27a] durchgeführt. Von einer Saturation des Serums mit den CO_2-Spannungen, wie sie in den Versuchen zur Anwendung kamen, wurde vorläufig bewußt Abstand genommen, um die durch den depressiven $H^{\cdot}$-Effekt auftretenden Erschwerungen der Beurteilung zunächst auszuschalten. Eine eingehende Berücksichtigung dieses Effektes in Versuchen am intakten Säugetierorganismus sei späteren Untersuchungen vorbehalten.

Die ersten zuverlässigen Bestimmungen des CO_2-Einflusses auf den Kolloiddruck des isolierten Blutes bzw. Serums nahm O. Hepp [28] mit seinem schnell und genau arbeitenden Onkometer vor. Er beobachtete im Serum nach CO_2-Einwirkung ein starkes Absinken des Kolloiddruckes. Im defibrinierten Blut vermißte er diesen Abfall. Durch die Serumeindickung als Folge des osmotischen Ausgleiches mit den Erythrozyten ließ sich dieser Effekt nicht in ausreichendem Maße erklären. In neuen Untersuchungen fanden Heinz und Netter [29], ausgehend von der Tatsache, daß bei der osmotischen Schwellung der Erythrozyten das Wasser nur dem wahren Lösungsraum entzogen werde, als hinreichende Erklärung für die von Hepp beobachtete Diskrepanz die Berücksichtigung des nichtlösenden Raumes.

Die vorliegenden Messungen ergaben überraschenderweise ein gegensätzliches Verhalten des Kolloiddruckes je nach Höhe der angewandten CO_2-Spannung. Bei den niederen Konzentrationen stieg der Kolloiddruck regelmäßig an, um bei den hohen tief abzufallen.

Um irrtümlichen Auffassungen vorzubeugen, sei betont, daß solche Kolloiddrucksteigerungen *unter* CO_2 im Blut nicht auftreten. Vielmehr bleibt dann der Kolloiddruck konstant. In unseren Versuchen wurde das Plasma nach der CO_2-Einwirkung abgetrennt. Bei diesem Arbeitsgang stand das Blut unter annähernd gleicher CO_2-Spannung wie im Versuch. Die Kolloiddruckmessung wurde erst angeschlossen, nachdem die Kohlensäure entwichen war. Demgemäß geben die vorliegenden Messungen nur Hinweise für die stattgehabten osmotischen Verschiebungen.

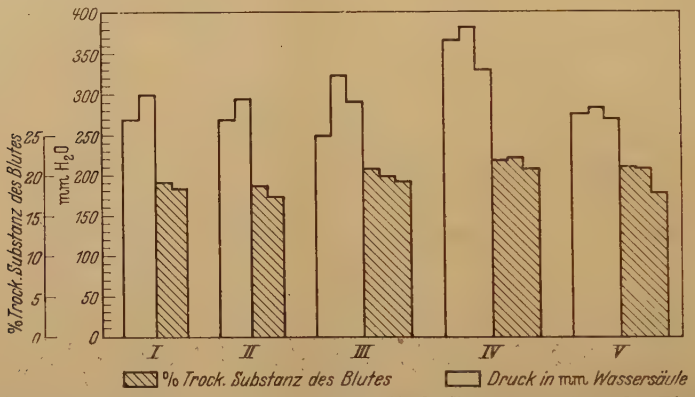


Abb. 1. Kolloiddruck des Serums und prozentische Trockensubstanz des Blutes nach CO_2-Einwirkung. Die linken Schenkel der Figuren geben jeweils die Ausgangswerte an, die rechts anschließenden Schenkel die Werte nach CO_2. I und II sind Versuche an Katzen bei niederen CO_2-Spannungen. III—V sind Versuche am Hund (Näheres hierzu s. Text).

Im Wirkungsbereich von 2—7 Vol.-% CO_2 betrug der Kolloiddruckanstieg bei Katze und Hund im Mittel 11% (s. Abb. 1). Ließ man das Tier sich von der CO_2-Einwirkung erholen, so sank der Kolloiddruck wieder ab (Fig. III der Abb. 1). Dasselbe Verhalten, nur noch in viel stärkerem Grade, beobachtete man, wenn man nach der Einwirkung niederer CO_2-Spannungen plötzlich hohe folgen ließ (Fig. IV und V der Abb. 1); hierbei sank der Kolloiddruck unter die Norm ab.

Es sollen nun noch einige nähere Ausführungen über den Mechanismus der Kolloiddruckzunahme in unseren Versuchen folgen. Ohne die gleichzeitige Bestimmung des Serum-Gesamteiweißes und seiner Fraktionen kann eine befriedigende Erklärung nicht gegeben werden. Für eine Zunahme des Gesamteiweißes spricht in erster Linie die hinreichend bekannte, dem osmotischen Ausgleich dienende Wasserverschiebung in den Blutkörperchenraum. So selbstverständlich dies in quantitativ definierbarer Form für das isolierte System Plasma/Blutkörperchen gilt, so wenig ist zunächst hinsichtlich des rein größenordnungsmäßigen Verhaltens im Gesamtorganismus, in dem die einzelnen wäßrigen Systeme regulatorisch fließend ineinander übergreifen, auszusagen. Da ist als erstes Moment der fraglos vorhandene Hydrämieeffekt zu erwähnen. Er zeigt sich

z. B. in einem Absinken des Bluttrockengewichtes (s. Abb. 1); nur in den Zweiphasen-Vergiftungsversuchen (s. Fig. IV und V) zeigte die Trockensubstanz des Blutes keine Veränderung. Der Hydrämieeffekt, der eine Verdünnung der Plasmaeiweißkonzentration herbeiführt und dadurch dem Plasma das an den Blutkörperchenraum verlorene Wasser ersetzt, wird nun stets begleitet von einer Mobilisierung der Blutdepots aus dem Splanchnicusgebiet. Die Drosselung der Blutzufuhr zum Splanchnicusgebiet führt zwar hier zu einer relativen Insuffizienz der Gewebeventilation, gegen die der Körper aber nach W. R. Hess [30] zunächst weniger empfindlich ist und die er daher in Kauf nimmt. Diese Blutausschüttung findet ihren sichtbaren Ausdruck in einer Vermehrung der strömenden Blutmenge. Je nachdem nun das Verhältnis zwischen mobilisiertem Blut zum einströmenden Gewebswasser in den einzelnen Versuchen größer oder kleiner ist, kommt ein

Tabelle 6. *Verhalten des Kolloiddruckes und des Eiweißgehaltes im Serum des Hundes bei schwerer CO_2-Vergiftung und nach Erholung.*

Nr.		Druck in mm H_2O	% Eiweiß	Kolloiddruck für 1% Eiweiß	Gesamt-N in mg-%	Trockensubstanz des Blutes in %
12	Ausgangswerte	290	5,3	55	852	21,1
	nach Vergiftung	230	4,0	58	632	20,4
	nach Erholung	335	5,6	60	924	21,0
14	Ausgangswerte	315	6,1	52	—	20,9
	nach der Vergiftung	265	5,3	50	—	18,6
15	Ausgangswerte	280	5,5	51	994	22,1
	nach Vergiftung	230	5,0	46	826	21,0
	nach Erholung	275	5,4	51	886	20,9
16	Ausgangswerte	248	4,4	56	700	21,6
	nach Vergiftung	225	4,0	56	658	19,1
	nach Erholung	245	4,6	53	770	17,7

stärkeres oder geringeres Ansteigen des Kolloiddruckes im Serum zur Beobachtung. Zu erwähnen bliebe schließlich noch, daß auch eine Verschiebung der beiden Eiweißfraktionen Albumin und Globulin im Sinne einer Erhöhung des Eiweißquotienten zu einer Kolloiddrucksteigerung führen müßte. Ob ein solches Verhalten im akuten Versuch bei niederen CO_2-Spannungen in Frage kommt, kann nur durch genaue Versuche geklärt werden, scheint aber wenig wahrscheinlich zu sein. Als Folge chronischer Einwirkung geringer CO_2-Konzentrationen fand Mies [31] in unveröffentlichten Versuchen jedenfalls eher eine Zunahme der Globuline. Hiermit in Übereinstimmung kommt es bei hochgradiger, kurzdauernder CO_2-Azidose nach Eppinger [21], wie noch zu besprechen sein wird, zu einer eindeutigen Globulinvermehrung.

Der stärkere Kolloiddruckabfall bei Umschaltung von einer niederen CO_2-Konzentration auf eine hohe wurde schon bei der Besprechung der Abb. 1 erwähnt (Darstellung der Zweiphasenvergiftungen in Fig. IV und V). Einige weitere Versuche bei hohen CO_2-Spannungen seien in Tabelle 6 zusammengestellt. Im Mittel sank hier der Kolloiddruck von 283 auf 238 mm H_2O ab, um nach der Erholung wieder zur Norm zurückzukehren oder sogar darüber hinaus anzusteigen. Um nun einen Anhalt zu gewinnen, ob die Abnahme des Kolloiddruckes

mehr auf eine Eiweißverminderung des Serums, also auf einen hydrämischen Effekt, zurückzuführen ist, oder ob eine Veränderung des Albumin-Globulinquotienten im Sinne einer Globulinvermehrung als Ursache anzunehmen ist, wurde in (allerdings ergänzungsbedürftigen) Versuchen der Gesamteiweiß- und Gesamt-N-Gehalt des Serums bestimmt. Es ergab sich, daß der Eiweißgehalt regelmäßig absank und daß der „reduzierte" Kolloiddruck nur in 2 von 4 Fällen diese Bewegungen mitmachte. EPPINGER [21] fand im Gegensatz hierzu in seinen allerdings kurzfristigeren Versuchen von 20—30 Min. Dauer eine Zunahme des Gesamteiweißes und eine erhebliche Globulinvermehrung. Jedenfalls sind in unseren Versuchen die Abnahmen des kolloidosmotischen Druckes nach hohen CO_2-Konzentrationen im wesentlichen auf eine Blutverdünnung durch Gewebswassereinstrom zurückzuführen. Die Verschiebung des Eiweißquotienten nach der Globulinfraktion hin dürfte diesen Effekt noch verstärken. Der Hinweis auf die Globulinvermehrung zeigt an, daß es sich bei den Kolloiddruckmessungen ohne CO_2-Saturation nicht um einfache refraktometrische Eiweißbestimmungen im Serum handelt.

Wegen des Abströmens von Flüssigkeit aus den Gewebsspalten in die Blutbahn kommt es zwangsläufig zu einer Erhöhung der Trockensubstanz des Gewebes. Andererseits muß dies zu einer Hydrämie führen. Den Hauptanteil der Gewebsflüssigkeit scheint die Muskulatur bereitzustellen. Errechnet man nämlich aus sämtlichen durchgeführten CO_2-Versuchen die mittleren Trockengewichte für Blut und Muskel, so fällt das prozentische Trockengewicht des Blutes um 6,95% ab, während die Trockensubstanz des Muskels sich um 1,23% und die der Muskelfaser sich um 1,13% erhöhen. Berücksichtigt man hierbei, daß die Gesamtmuskelmasse des Körpers mit 45% und die Gesamtblutmenge mit 8% angesetzt werden können, so wird ein annähernd äquivalentes Verhalten von Blut und Muskulatur deutlich. In Tabelle 7 werden die Veränderungen der mittleren

Tabelle 7. *Verhalten der Trockensubstanz bei verschiedener CO_2-Spannung. Angabe von Mittelwerten.*

Tierart	mm CO_2	Trockensubstanz in %					
		Gesamtmuskel		Blut		Muskelfaser	
		vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
Katzen	28,9	25,0	25,3	18,3	17,2	26,6	26,7
Kaninchen . . .	33,7	24,9	25,2	19,1	17,4	27,5	27,6
Hunde.	49,0	24,7	25,2	20,4	19,5	26,3	27,1
Kaninchen . . .	84,3	23,2	23,9	18,3	15,9	25,2	26,3
Hunde	95,8	24,3	24,5	20,1	18,3	26,6	26,65
Hunde	223,0	23,8	23,9	20,7	19,5	25,8	25,85

Tabelle 8. *Verhalten der prozentischen Trockensubstanz nach Erholung von CO_2-Wirkung.*

Gesamtmuskel			Blut			Muskelfaser		
vorher	nach CO_2	nach Erholung	vorher	nach CO_2	nach Erholung	vorher	nach CO_2	nach Erholung
a) Niedere CO_2-Konzentrationen (im Mittel 45 mm CO_2).								
24,8	25,1	25,5	20,4	19,8	19,8	27,3	27,4	27,7
b) Hohe CO_2-Konzentrationen (im Mittel 215 mm CO_2).								
24,2	24,2	24,5	21,6	20,2	20,5	26,7	26,8	27,1

Trockensubstanzen für die einzelnen Versuchsgruppen in Abhängigkeit von der angewandten CO_2-Spannung wiedergegeben. Man gewinnt den Eindruck, als ob die CO_2-Konzentration hierbei keine wesentliche Rolle spielt, abgesehen vielleicht von den Versuchen an Kaninchen. Nach Erholung von der CO_2-Einwirkung (s. Tabelle 8) zeigt sich bei der Trockensubstanz des Blutes eine gewisse Reversibilität an, während die Trockensubstanz des Muskels weiterhin zunimmt. Dieses Verhalten läßt sich zwanglos durch die verstärkt einsetzende Diurese nach Absetzen der CO_2-Zufuhr erklären (s. später).

In den Tabellen 7 und 8 sind außerdem noch die errechneten Werte für die Muskelfaser angegeben. Die prozentische Trockensubstanz der Faser liegt höher als die des Gesamtmuskels, da der aus Cl-Serum, Cl-Muskel und den Trockensubstanzen von Blut und Muskel errechnete Blut- und Gewebsflüssigkeitsanteil in Abzug zu bringen ist. Wie schon oben bemerkt, liegt der Trockensubstanzzuwachs der Muskelfaser nach CO_2-Einwirkung größenordnungsmäßig auf ungefähr der gleichen Höhe wie der Zuwachs des Gesamtmuskels.

Die Berechnungen der Muskelfasertrockensubstanz basieren auf der gut begründeten Annahme, daß die Muskelzelle Cl-frei ist, und daß das Cl' praktisch ausschließlich der extrazellulären Zwischensubstanz, d. h. der Blut- und Gewebsflüssigkeit, angehört. Den Beweis hierfür erbrachten erstmalig Mond und Netter [12], die in Durchströmungsversuchen mit isotonischer Traubenzuckerlösung am Laewen-Trendelenburgschen Gefäßapparat des Frosches zeigen konnten, daß sämtliches Cl ohne Schädigung des Muskels auswaschbar war. Einen weiteren Beweis für die Cl-Freiheit der Faser lieferten Hudoffsky, Malorny und Netter [13], indem sie nachweisen konnten, daß bei der NaCl-Vergiftung das Cl' im Zwischengewebe verbleibt, während das $Na^{\cdot}$ im Austausch gegen $H^{\cdot}$ zur Hintanhaltung der drohenden Gewebsazidose an den Muskel tritt. Nach ihrer Auffassung dienen hierbei die getrennten Na- und Cl-Bewegungen zudem einem osmotischen Ausgleich. Die auf diese Weise im Blut entstehende HCl führt durch Verminderung der Alkalireserve zu der NaCl-Azidose, die als solche schon früher von Behrens [32] erkannt war. In Übereinstimmung mit unseren Gedankengängen fanden O. und L. Eichler [33] bei Prüfung verschiedener NaCl-Konzentrationen auf die Ausscheidung anorganischer Substanzen beim Frosch eine anfangs überschießende Cl-Ausscheidung. — Auch für andere Zellsysteme, wie z. B. für die Leber, wurde die Cl-Freiheit der Zelle nachgewiesen (Truax [33a]). Erwähnt sei aber auch, daß Boyle und Conway [7] die Ansicht vertreten, daß Cl sich über Zelle und Gewebsflüssigkeit gemäß einem elektrostatischen Membrangleichgewicht verteile; ihrer Meinung nach ist der Cl-Gehalt der Zelle gegenüber dem der Außenflüssigkeit

sehr gering. Nach unserer Auffassung ist jedoch die Zellmembran für Anionen impermeabel; demgemäß führt die Aufhebung ihrer Impermeabilität zur irreversiblen Zellschädigung. Die besonderen Versuchsbedingungen von BOYLE und CONWAY [7] lassen die Annahme einer veränderten Membrandurchlässigkeit im Sinne einer Schädigung als möglich erscheinen.

Einzelheiten über die Berechnung der Trockensubstanz der Muskelfaser sind in einer früheren Arbeit von HUDOFFSKY, MALORNY und NETTER [13] ausführlich wiedergegeben. Für die Ermittlung des extrazellulären Raumes E in den vorliegenden Untersuchungen wurde das Zwischengewebe zu $^1/_3$ aus Blut und zu $^2/_3$ aus Zwischengewebsflüssigkeit bestehend angenommen. Durch das Verhältnis des bei den Muskelanalysen gefundenen Cl_m zu dem Cl-Gehalt des Zwischengewebes (Cl_E) wird die Größe des extrazellulären Raumes bestimmt. Mit Hilfe der Trockensubstanz des Blutes und der eiweißfreien Zwischenflüssigkeit läßt sich die Trockensubstanz des Zwischengewebes leicht berechnen. Diese Größe wird von der Trockensubstanz des Muskels in Abzug gebracht und zum Muskelfaseranteil (100 — E) in Beziehung gesetzt.

Außer für die Muskulatur wurde in einigen Versuchen auch das Trockengewicht der Leber bestimmt. Die Feststellung dieses Verhaltens versprach insofern interessante Ausblicke, als die Leber, wie noch zu zeigen sein wird, in Wechselbeziehung zu den Ionenaustauschbewegungen des Muskels steht. Wie die Tabelle 9 zeigt, fiel die prozentische Trockensubstanz sowohl nach niederen wie höheren CO_2-Konzentrationen fast regelmäßig ab, im Mittel um 4%. Ein vermehrter Gehalt an Blut und extrazellulärer Gewebsflüssigkeit kann als Grund für die Trockengewichtsverminderung praktisch ausgeschlossen werden, da der Cl-Gehalt der Leber, der als Gradmesser für die Durchblutungsgröße gelten kann, eher die Tendenz zur Abnahme nach dem Versuch zeigte, wenn man von 2 Versuchen absieht (s. Tabelle 17). Die Trockengewichtsabnahme ist sehr wahrscheinlich auf eine osmotisch bedingte Anschwellung der Leberzellen zurückzuführen. Wie später noch im einzelnen zu zeigen sein wird, verhalten sich die Leberzellen wegen ihres relativ hohen Pufferungsvermögens gegenüber dem Plasma bzw. den Gewebsflüssigkeiten ähnlich wie die Erythrozyten: Sie geben unter Voraussetzung der Kationenpermeabilität der Zellmembran Alkali im Austausch gegen H-Ionen ab und nehmen wegen des auftretenden osmotischen Ungleichgewichtes, was allem Anschein nach auch hier durch eine verstärkte HCO'_3-Bildung

Tabelle 9. *Leber-Trockengewichte.*

Nr.	Tierart	Vol.-% CO_2	% Trockensubstanz	
			vorher	nachher
2	Hund	6,7	25,3	24,9
3	Hund	11,7	28,9	28,6
5	Hund	4,0	28,4	27,1
5	Hund	11,8	28,4	28,3
8	Hund	6,4	29,5	29,7
2	Kaninchen	7,0	23,9	24,3
12	Kaninchen	2,4	27,5	23,8
13	Kaninchen	11,4	27,6	24,7
15	Kaninchen	10,7	27,3	26,5
16	Kaninchen	11,0	27,1	25,0

verursacht wird, Wasser auf. Denn in den gut gepufferten Systemen steigt der osmotische Druck bei CO_2-Belastung besonders stark an.

In diesem Zusammenhang ist die Feststellung von HAMBURGER [3] erwähnenswert, der nach halbstündiger Einwirkung von CO_2 auf eine Leberzellsuspension eine Schwellung dieser Zellen auftreten sah.

Als letzter Faktor, der einen starken Einfluß auf die Wasserverschiebungen im Körper auszuüben vermag, wäre die Frage des Blutverlustes kurz zu besprechen. Ein solcher Verlust ist wegen der Notwendigkeit einer Blutentnahme vor dem Versuch unvermeidlich. Bei den Hunden fiel er wegen der Größe der Tiere praktisch nicht ins Gewicht, wohl dagegen bei den Kaninchen und Katzen. Hier konnte der Verlust 5—8% der Gesamtblutmenge betragen, wie bereits erwähnt. In den Kontrollversuchen (s. Tabelle 1) zeigte sich demgemäß auch eine gewisse Abnahme der Bluttrockensubstanz, die allerdings geringer als bei den CO_2-Versuchen war. Bemerkenswerterweise nimmt, worauf besonderes Gewicht zu legen ist, die Trockensubstanz des Muskels in keinem Falle zu. Darum ist die in den vorausgegangenen Abschnitten beschriebene Zunahme der Muskeltrockensubstanz als CO_2-Wirkung aufzufassen.

II. Mineralveränderungen im Gewebe.

1. Die isohydrische und osmoregulatorische Steuerfunktion der Gewebsalkalien.

Gewisse Veränderungen im Blute, die sich namentlich im Verhalten seiner Alkalibasen und des Bikarbonats zeigten, erlaubten bereits einige Rückschlüsse auf entsprechende Änderungen der Pufferungsleistungen der Gewebe. Ähnlich wie im Blut staut sich die Kohlensäure auch im Gewebe, ihrer endogenen Bildungsstätte, an. Als Grund hierfür ist die Verminderung des CO_2-Diffusionsgefälles vom Gewebe zum Blut infolge der exogen eindringenden Kohlensäure anzunehmen. Die Kohlensäure bildet mit den Alkalisalzen der Gewebsproteine in verstärktem Maße Bikarbonat.

LEUTHARDT [8] ermittelte für eine gegebene Proteinlösung die Titrationskurve bei verschiedenen CO_2-Konzentrationen mit Hilfe von Kurvenscharen, die die Bikarbonatbildung in Abhängigkeit von p_H zeigten. Danach ging die Bikarbonatbildung mit einem Freiwerden der an das Protein gebundenen Basenäquivalente einher. Diese Beziehungen wurden allerdings nur für ein isoliertes Protein-Kohlensäuresystem konstruiert. Die Ionenaustauschvorgänge mußten darum in den Systemen LEUTHARDTS unberücksichtigt bleiben. Aus diesen Untersuchungen läßt sich aber soviel erkennen, daß der Bikarbonatzuwachs in dem zur Diskussion stehenden CO_2-Bereich z. B. geringer als im entsprechenden Bereich sehr niedriger CO_2-Spannungen ist.

Man wird demnach das Bestreben des Körpers, das nun im einzelnen gewürdigt werden soll, verstehen, durch Aufnahme von Basen, im wesentlichen von Na und K, das Pufferungsvermögen seiner besonders dringend benötigten Gewebe zu erhöhen. Als solche schutzbedürftige Gewebe I. Ordnung kommen in Frage das Zentralnervensystem, der Herzmuskel und die Muskulatur des Bewegungsapparates.

Die inneren Organe treten demgegenüber an Bedeutung stark zurück, was sich unter anderem darin zeigt, daß z. B. die Leber sogar einen Teil ihrer Basen abgibt. Diese Basen nimmt der Muskel auf. Es wird also ein Gewebe vor der Säuerung geschützt, das als Träger der Notfallsfunktionen dem Körper die Möglichkeit gibt, sich aus der gefährlichen Atmosphäre zu entfernen.

Die Alkalien stellen sich somit in den Dienst der Reaktionsregulation im Muskelgewebe. Wie im Blutplasma haben sie aber im Muskel noch eine weitere Aufgabe zu erfüllen. Infolge der CO_2/HCO'_3-Vermehrung kommt es zu einer Störung des osmotischen Gleichgewichtes, primär zwar nur im Blut; Rückwirkungen werden aber auch im Gewebe spürbar.

Wie bei der Besprechung der Wasserverschiebungen bereits angedeutet, steigt als Folge der CO_2-Wirkung die Trockensubstanz des Muskels an, d. h. der Muskel gibt Wasser ab. Dies ist offenbar aus osmoregulatorischen Gründen notwendig. Denn vieles spricht dafür, daß in den extrazellulären Flüssigkeiten der osmotische Druck stärker als im Muskel ansteigt. Die Störung des osmotischen Gleichgewichtes setzt in den Blutkörperchen ein, wo das Hämoglobin durch Bereitstellung von Basenäquivalenten die Bikarbonatbildung einleitet. Der Wasserabstrom aus dem Plasma in die Erythrozyten führt zu einer Erhöhung des osmotischen Druckes im Plasma. Ähnliche Vorgänge spielen sich in der gesamten Gewebsflüssigkeit ab. Indem nun die extrazelluläre Flüssigkeit Alkalikationen an den Muskel abgibt, wirkt dieser Vorgang der Wasserabgabe durch den Muskel entgegen, ohne allerdings diesen Prozeß voll zu kompensieren.

Für die Osmoregulation kommen sehr wahrscheinlich die K-Ionen in erster Linie in Frage, da das $K^{\cdot}$ als frei diffssibles Hauptkation der Muskelzelle osmotisch voll wirksam ist. Das $Na^{\cdot}$ ist stärker hydratisiert als das $K^{\cdot}$ und ist, vielleicht aus diesem Grund, zur Permeation ins Zellinnere nicht befähigt. Es kommt also auch nicht als osmotisch wirksamer Binnenelektrolyt I. Ordnung in Frage und ist hierin dem $K^{\cdot}$ nicht vergleichbar. Für die untergeordnete osmoregulatorische Bedeutung des Na im Muskel spricht auch, daß die Na-Mengen, die der Muskelfaser zugeordnet sind, bei den einzelnen Muskeln sehr starke Schwankungen aufweisen. Gemäß unserer schon früher entwickelten Vorstellungen ist für das Na eine oberflächliche Lagerung an die Fasermembranen anzunehmen. Es liegt hier wahrscheinlich in Form einer hydrolytischen Adsorption vor *. Es bildet sog. Membrandepots, die unter bestimmten Bedingungen vergrößert oder vermindert werden können. Die osmoregulatorische Bedeutung der $K^{\cdot}$ geht auch daraus hervor, daß bei der schweren CO_2-Vergiftung entsprechend der gesteigert bleibenden osmotischen Belastung auch der K-Gehalt des Muskels erhöht bleibt, während das Faser-Na sich wegen der zunehmenden Säuerung vermindert. Für den hohen osmotischen Druck bei gesteigerter CO_2-Spannung spricht auch die Tatsache, daß die Muskeltrockensubstanz erhöht bleibt.

---

* In noch unveröffentlichten Versuchen fand A. FLECKENSTEIN [34], daß bei variierter Na-Außenkonzentration die Zuckungshöhe des Froschmuskels keine lineare Abhängigkeit von der Na-Konzentration zeigte, sondern bei graphischer Darstellung eine Kurve ergab, die der FREUNDLICHschen Adsorptionsisotherme entsprach.

2. Einfluß niederer CO_2-Spannungen.

Läßt man einen ruhenden tierischen Organismus mit CO_2 angereicherte Luft einatmen, so kommt es zu einer Basenvermehrung in der Muskulatur. Diese Vermehrung ist eindeutig und betrifft sowohl das K wie das Na, wie die Tabellen 8—10 erweisen. Das gleichsinnige Verhalten der beiden Kationen bedeutet für uns keine Überraschung, sondern eine Bestätigung für die Richtigkeit der schon früher geäußerten Vorstellungen. Danach beruhen die Bewegungen des Na und K nicht auf einfachen Austauschbeziehungen. Vielmehr haben die beiden Kationen im Muskel ihre eigenen Sonderfunktionen zu erfüllen.

Die Streuung ist bei den Einzelversuchen, für die ausnahmslos nur die Mittelwerte aus 4—6 Analysenpaaren angegeben sind, ziemlich gering. Unterschiede sind meist nur hinsichtlich der Größenzunahme zu bemerken. Namentlich gilt dies für das K. Beim Na ist die Streuung etwas größer. Hier beteiligen sich manchmal nicht alle Muskeln im gleichen Maße an der Na-Aufnahme. Eng benachbarte Muskeln, wie Tibialis und Gastrocnemius, zeigen gelegentlich Unterschiede, insofern, als beim Gastrocnemius des Kaninchens bisweilen sogar geringfügige Na-Abnahmen zu beobachten sind, während gleichzeitig beim Tibialis der Anstieg dann meist um so stärker ist. In der Regel verlaufen aber die Na-Bewegungen in der Muskulatur durchaus gleichsinnig. Beim Na ist der extrazelluläre Anteil zu berücksichtigen und in Abzug zu bringen. Vergleichbar sind hier nur die Bewegungen des Faser-Na.

Betrachtet man nämlich das Verhalten des Na im Gesamtmuskel, also das analytisch gefaßte Muskel-Na, so sieht man zum Teil beträchtlichere Schwankungen, unter anderem auch Abnahmen, die dann allerdings fast immer auf einen gleichzeitig verringerten Cl-Gehalt zurückzuführen sind. Im großen und ganzen sind die Cl-Abweichungen von den Ruhewerten recht gering. Das Verhalten der Cl-Werte bietet einen gewissen Anhalt für die Durchblutungsgröße des Muskels nach dem Versuch. Sie ist offenbar nicht vergrößert. Hieraus kann man aber keine Schlüsse über die wahren Durchblutungsverhältnisse des Muskels in der CO_2-Atmosphäre selbst ziehen. Der genannte Effekt könnte nämlich auch durch die Entblutung mitbedingt sein.

Der K-Gehalt kann ebenfalls auf die Faser bezogen werden. Besonders leicht ist dies bei Hund und Katze möglich, da deren Erythrozyten praktisch K-frei sind.

Für den Zwischenflüssigkeitsanteil ist bei diesen Tieren von dem errechneten K-Wert ein geringer, 2% nicht überschreitender Betrag abzuziehen. Beim Kaninchen sind genaue Werte für den Faser-K-Gehalt nur über entsprechende K-Analysen des Vollblutes zu erlangen. Für diese Tierart wurden darum stets nur die Muskel-K-Werte angegeben. Trotzdem ist eine annähernde Schätzung des Faser-K-Gehaltes wohl auch bei den Tieren mit K-haltigen Erythrozyten statthaft. Die Blut- und Zwischenflüssigkeitsveränderungen vor und nach CO_2-Wirkung fallen nämlich nicht allzu hoch ins Gewicht. Bei gleichbleibendem Blut-K-Gehalt

und einem Zwischengewebsanteil von 20%, der zu einem Drittel aus Blut bestehend angenommen wird, würde der errechnete K-Wert etwa um 6—7% zu verringern sein. Die dominierende Ursache für die Geringfügigkeit der Schwankungen des Faser-K im Vergleich zum Muskel-K ist letzten Endes immer im hohen K-Gehalt der Muskelzelle zu sehen. Die Bedeutung des extrazellulären Raumes als K-Träger tritt hier ganz zurück.

Anders dagegen beim Na. Die Berücksichtigung des extrazellulären Raumes ist hier die Voraussetzung für die richtige Beurteilung der wahren Na-Bewegungen. Seiner Berechnung liegen die in der Arbeit von HUDOFFSKY, MALORNY und NETTER[13] ermittelten Ansätze zugrunde, auf die bereits auch bei der Berechnung der Muskelfasertrockensubstanz (l. c.) Bezug genommen würde. Es sei nur noch darauf hingewiesen, daß in der Zwischenflüssigkeit auch das Na (Na_z s. Tabelle 10)

Tabelle 10. *Mineralverschiebungen in der Muskulatur des Kaninchens bei niederen CO_2-Konzentrationen* (vgl. Tab. 2).

Nr.		Muskel (mg-%)			Zwischenflüssigkeit (mg-%)		$\frac{Na_E}{Cl_E}$	$\frac{Na}{F'}$	Cl_E	$\frac{Cl_m}{Cl_E}$ 100	$\frac{100}{E}$	Faser-N
		K	aN	Cl	Cl_z	Na_z						
2	vorher	314	123,0	78,8	443	351	0,741	64,6	393	20,0	80,0	80,8
	nach CO_2	396	106,0	43,5	378	316	0,751	73,3	342	12,7	87,3	84,0
3	vorher	295	83,5	43,9	473	344	0,771	49,7	416	10,5	89,5	55,5
	nach CO_2	391	82,0	39,9	482	344	0,702	54,0	324	12,3	87,7	61,6
4	vorher	353	79,8	48,8	469	335	0,722	44,6	405	12,0	88,0	50,7
	nach CO_2	375	95,7	47,4	460	366	0,790	58,2	410	11,6	88,4	65,9
5	vorher	358	81,6	35,9	447	363	0,775	53,8	393	9,1	90,9	59,2
	nach CO_2	362	84,9	36,0	526	369	0,725	58,8	440	8,2	91,8	64,0
6	vorher	369	105,0	48,8	478	373	0,749	68,4	410	11,9	88,1	77,7
	nach CO_2	373	120,0	56,7	455	371	0,778	75,9	391	14,5	85,5	88,8
12	vorher	351	55,0	44,7	447	243	0,570	29,5	398	11,2	88,8	33,2
	nach CO_2	384	59,8	42,1	500	289	0,604	34,4	436	9,7	90,3	38,1
Mittelwerte	vorher	340	88,0	50,2			0,721		403	12,5		59,5
	nach CO_2	380	91,4	44,3			0,725		391	11,5		67,1

mit Hilfe des Serum-Na unter Berücksichtigung des im Serum größeren nichtlösenden Raumes und der DONNANschen Elektrolytverteilung zwischen Blut und Zwischenflüssigkeit errechnet werden kann, in ähnlicher Weise wie es für das Cl der Zwischenflüssigkeit (Cl_z) möglich ist. Der extrazelluläre Raum (E) besteht aus Blut, Zwischenflüssigkeit und Bindegewebe. Nach EICHELBERGER[35] schwankt der Blutanteil je nach Funktionszustand des Muskels zwischen 25 und 50%. In unseren Versuchen wird er zu $33^1/_3$% angenommen. Der Gehalt des Bindegewebes an den Hauptelektrolyten Cl und Na zeigt nach den Analysen von MANERY, DANIELSON und HASTINGS[36] praktisch keine Abweichungen von der Zusammensetzung der Zwischenflüssigkeit. Der Cl-Gehalt des Gesamtzwischengewebes (Cl_E in Tabelle 10) errechnet sich mit Hilfe des Blut-Cl (Cl_b) und des Zwischengewebs-Cl zu $^1/_3\ Cl_b + {}^2/_3\ Cl_z$.

Wird nun der Cl-Gehalt des Muskels (Cl_m) in Beziehung zum Cl_E gesetzt, so erhält man den extrazellulären Raum (E). Er entspricht dem Quotienten $\frac{Cl_m \cdot 100}{Cl_E}$

In den Muskelanalysen ist das Gesamt-Na bestimmt worden (Na_m). Hiervon muß nun die Na-Menge (Na_E) abgezogen werden, die auf den extrazellulären

Raum entfällt. Man bestimmt also zunächst den extrazellulären Na/Cl-Quotienten (Na_E/Cl_E) gemäß

$$^1/_3 \frac{Na_b}{Cl_b} + ^2/_3 \frac{Na_z}{Cl_z} = \frac{Na_E}{Cl_E} *.$$

Na_E läßt sich hieraus leicht berechnen. Auf diese Weise erhält man dann den Na-Gehalt der Muskelfaser in 100 g Gesamtmuskel (Na'_F). Bezieht man jetzt dieses Na auf die reine Faser — den Faseranteil bestimmt man nach Abzug des extrazellulären Raumanteils ($100 - E$) —, so erhält man das auf 100 g Muskelfaser entfallende Na, das Faser-Na in Milligrammprozent. Auf diese etwas umständliche Weise sind in den folgenden Tabellen die Faser-Na-Werte errechnet worden. Die wichtigsten Zwischenrechnungen sind in Tabelle 10 zur besseren Erläuterung der Berechnungsweise mit angegeben.

Die Alkalizunahmen nach Einwirkung niederer CO_2-Spannungen betragen nach Umrechnung in mMol/kg Frischmuskel beim Kaninchen 13,5 mMol (Muskel-K 10,2, Faser-Na 3,3), bei der Katze 14,5 mMol (Faser-K 8,5, Faser-Na 6,0) und beim Hund (7 Versuche gemäß Tabelle 12 und 16a) 12,1 mMol (Faser-K 5,4, Faser-Na 6,7). Wie man sieht, steigt bei Kaninchen und Katzen das K stärker als das Na an, bei den Hunden sind die Verhältnisse umgekehrt. Eine Ionenäquivalenz besteht nicht.

Tabelle 11. *Mineralverschiebungen im Katzenmuskel bei niederen CO_2-Konzentrationen* (22—35 mm CO_2).

Nr.		Gesamtmuskel (mg-%)			Na_E/Cl_E	Muskelfaser (mg-%)	
		K	Na	Cl		K	Na
2	vorher	364	67,6	23,9	0,732	374	52,6
	nach CO_2	367	80,6	26,1	0,762	381	64,4
3	vorher	347	52,5	33,3	0,776	365	28,7
	nach CO_2	385	67,9	36,7	0,749	412	44,2
4	vorher	273	76,6	45,9	0,691	292	49,5
	nach CO_2	326	83,2	46,9	0,717	353	55,0
5	vorher	306	86,7	45,9	0,742	331	58,4
	nach CO_2	330	99,9	34,8	0,793	349	78,5
6	vorher	369	70,8	56,5	0,719	409	34,2
	nach CO_2	378	84,1	54,0	0,724	417	50,8
8	vorher	385	59,1	44,9	0,679	413	31,3
	nach CO_2	394	73,7	43,8	0,770	427	44,2
9	vorher	321	98,4	19,6	0,777	327	87,0
	nach CO_2	329	112,3	18,6	0,769	335	102,0
Mittelwerte	vorher	338	73,1	38,6	0,731	359	48,8
	nach CO_2	359	86,0	37,3	0,755	382	62,7

* Die Werte für diesen Quotienten liegen im allgemeinen zwischen 0,7 und 0,8. Die Schwankungsbreite ist demnach geringer als im Blut. Beachtenswerterweise kommen die bei Hund und Katze einerseits und beim Kaninchen andererseits beobachteten deutlichen Unterschiede der Na/Cl-Quotienten des Blutes wegen des Überwiegens der ähnlich zusammengesetzten Gewebsflüssigkeit hier fast ganz in Wegfall.

Tabelle 12. *Mineralverschiebungen in der Hundemuskulatur bei verschiedenen CO_2-Konzentrationen* (vgl. Tabelle 4).

Nr.		Gesamtmuskel (mg-%) *			Na_E/Cl_E	Muskelfaser (mg-%) *		Trockensubstanz in %	
		K	Na	Cl		K	Na	Muskel	Blut
a) Bei niederen CO_2-Konzentrationen (46—55 mm CO_2).									
1	vorher	303	89,4	38,1	0,758	325	66,7	24,9	20,8
	nach CO_2	351	97,8	38,3	0,787	377	74,4	25,4	18,8
2	vorher	330	64,5	35,5	0,764	351	29,8	24,5	20,0
	nach CO_2	322	76,4	47,7	0,778	352	44,0	24,9	20,2
Mittelwerte	vorher	316	76,9	36,8	0,761	338	48,2	24,7	20,4
	nach CO_2	336	87,1	42,5	0,782	364	59,2	25,2	19,5
b) Bei 23—40 mm CO_2 (I) und 89—109 mm CO_2 (II).									
3	vorher	310	84,6	63,2	0,742	348	44,6	24,4	16,7
	nach CO_2 I	336	163,1	116,1	0,827	428	87,8	25,1	16,3
	nach CO_2 II	370	82,8	51,3	0,754	407	49,5	24,4	15,8
5	vorher	332	64,7	46,7	0,804	364	30,6	24,2	22,0
	nach CO_2 I	—	66,6	37,5	0,827	—	39,1	24,4	22,2
	nach CO_2 II	325	64,5	46,1	0,758	356	33,1	24,5	21,0
9	vorher	355	59,8	54,4	0,762	394	20,9	24,3	21,5
	nach CO_2 I	345	72,2	47,4	0,833	379	35,8	24,1	21,2
	nach CO_2 II	347	73,0	47,7	0,772	378	40,3	24,7	18,0
Mittelwerte	vorher	332	69,7	54,8	0,769	369	32,0	24,3	20,1
	nach CO_2 I	341	100,6	67,0	0,829	404	54.3	24,5	19,9
	nach CO_2II	347	73,4	48,4	0,761	380	41,0	24,5	18,3

Das K scheint, wie noch am gleichzeitigen Verhalten des Serum-K zu zeigen sein wird, hierbei anderen Gesetzen zu folgen als das Na. Es sei an dieser Stelle nur kurz darauf hingewiesen, daß speziell beim Hund das Serum-K den geringsten Anstieg zeigt.

Durch die K-Na-Aufnahme wird der Gesamtalkalibestand des Muskels bei den 3 Tierarten *um rund 10% erhöht.* Dies bedeutet eine sehr beachtliche Steigerung seiner Pufferkapazität. Die Ionenbewegungen können aber ohne Störung der Membranpotentiale nicht nur in einer Richtung verlaufen, es sei denn, daß Anionen mitgingen. Wegen der besonderen Permeabilitätsverhältnisse der Muskelmembran, die nur elektiv für Kationen durchlässig ist, dagegen nicht für Anionen, kommt diese Möglichkeit nicht in Betracht.

Da nun ein gegenseitiger Alkaliaustausch auch nicht in Frage kommt, ist, um zunächst bei den K-Bewegungen zu bleiben, ein *Austausch von $K^{\cdot}$ gegen $H^{\cdot}$* näher zu prüfen. Für eine solche Annahme sprechen mehrere Gründe. Die Fähigkeit der $H^{\cdot}$ zur Permeation durch die Membran in beiden Richtungen ist allgemein anerkannt. Durch die Beteiligung der Zelle am Stoffwechsel werden im Zellinneren $H^{\cdot}$ ständig neu gebildet. Bei unseren Versuchsbedingungen

* In den Tabellen 10—17 sind die Gewebsanalysen sämtlich auf das Frischgewicht bezogen.

kommt es durch das Eindringen von exogenem CO_2 sogar zu einer verstärkten $H^{\cdot}$-Bildung. Schon im Normalfall herrscht in der Muskelzelle eine deutlich sauere Reaktion als im Blut. Es ist nicht anzunehmen, daß bei Säurebelastung des ganzen Körpers das Verhältnis des Innen- zum Außen-p_H eine Umkehrung erfahren sollte. Im Gegenteil wird der Unterschied sich noch vertiefen, da das Blut wegen seiner höheren Pufferkapazität leichter seine Reaktion konstant erhalten kann. Das $H^{\cdot}$-Diffusionsgefälle wird sich also vergrößern. Ihrem Ausgleich kann der Austausch von $K^{\cdot}$ gegen $H^{\cdot}$ dienen. Indem nun CO_2 in die Muskelzelle hineindiffundiert, sich als Kohlensäure löst und $H^{\cdot}$ abdissoziiert, kommt es zu einem Eindringen von K-Ionen, die als starke Basen mit der Kohlensäure unter Bikarbonatbildung reagieren. Hierdurch werden die isohydrischen Leistungen des Gewebes in sehr bedeutsamem Umfange verstärkt. Eine Erhöhung der CO_2-Spannung führt gemäß dem Massenwirkungsgesetz auch zu einer Steigerung der HCO_3'-Konzentration, vorausgesetzt, daß Basenäquivalente zur Bindung freigemacht werden können. Hierdurch läßt sich bereits die Grenze der p_H-Kompensierung aufzeigen. Sie ist durch fortgesetzte Steigerung der CO_2-Zufuhr leicht zu erreichen. Die Gewebspuffersysteme werden hierbei eher zum Erliegen kommen als die Systeme des Blutes.

Der Mechanismus der K-Aufnahme in den Muskel muß nun noch im einzelnen besprochen werden. Für die Annahme aktiver Kräfte, die den K-Eintritt in die Zellen bewerkstelligen können, spricht zunächst das Vorhandensein einer p_H-Differenz zwischen Zellinnerem und extrazellulärer Flüssigkeit unter den gewählten Versuchsbedingungen, ferner die Ähnlichkeit des Ionenaustausches im System Muskelzellen/Außenflüssigkeit mit den Austauschvorgängen im System Blutkörperchen/Plasma.

Da die K-Erhöhungen in der Muskelfaser mit sehr beträchtlichen K-Steigerungen im Serum einhergehen, muß aber auch an die Mitwirkung passiver Kräfte gedacht werden, die, einem Hebemechanismus vergleichbar, das K in die Zellen hineinbefördern. Zwar kommt das K in den Muskelzellen in frei diffusibler Form vor und ist aus diesem Grunde und wegen der elektiven Kationenpermeabilität der Zellmembran in der Lage, frei zwischen Innen- und Außenmedium zu wechseln. Es ist aber zu beachten, daß zwischen dem extra- und intrazellulären K ein elektrostatisch erzwungenes Gleichgewicht besteht. Änderungen des K-Gehaltes der extrazellulären Phase ziehen Verminderungen bzw. Erhöhungen des Zellkaliums nach sich. Normalerweise verhält sich das K des Serums zu dem des Muskels bei allen Wirbeltieren ziemlich konstant, etwa wie 1:20. Nach Netter [37] ist die Muskelzelle des Frosches imstande, bei Steigerung des Außen-K ihren K-Bestand um $^1/_5$ zu vermehren.

Fenn [33] wies in diesem Zusammenhang besonders auf den Einfluß des Außen-p_H hin. Er konnte in Versuchen an Froschsartorien nachweisen, daß die K-Konzentration der Außenlösung, die im Diffusionsgleichgewicht zu dem Muskel-K steht, eine deutliche Abhängigkeit vom p_H der Außenflüssigkeit zeigt. Je saurer die Lösung, um so höher war der K-Gehalt. Fenn und Cobb [39] konnten in weiteren Versuchen zeigen, daß der Froschmuskel unter dem Einfluß erhöhter CO_2-Spannungen K aufnahm, wenn als Außenlösung Kaltblüterblut gewählt war.

Tabelle 13. *Beziehungen zwischen Serum-K und Muskelfaser-K bei CO_2-Einwirkung.*

Tierart	CO_2-Konz.	mg-% K_{Serum}		mg-% K_{Faser}		% Steigerung		$K_S : K_F$		$\frac{K_S \text{ nachher}}{K_F \text{ vorher}}$
		vorher	nachh.	vorh.	nachh.	Serum-K	Faser-K	vorher	nachher	
Hunde	niedere	17,4	21,5	369	390	23,6	5,7	1:21,2	1:18,1	1:17,1
Hunde	höhere	20,7	21,8	369	380	5,3	3,0	1:17,8	1:17,4	1:16,9
Hunde	hohe	18,6	20,5	390	389	9,1	—0,4	1:21,0	1:19,0	1:19,0
Katzen	niedere	15,8	21,5	363	388	36,1	6,9	1:23,9	1:18,1	1:16.9
Kaninchen†	niedere	13,0	21,9	340	380	68,4	11,8	1:26,2	1:17,3	1:15,5
Kaninchen†	höhere	13,7	13,8	404	423	0,7	4,7	1:29,5	1:30,6	1:29,3

† Bei den Kaninchen sind die Muskel-K-Werte angegeben.

In den vorliegenden Versuchen konnte das Bestehen des Gleichgewichtes K_i/K_a und der Versuch des Körpers, das Verhältnis bei Variation des K-Gehaltes der einen Phase annähernd konstant zu halten, im Experiment am intakten Säugetierorganismus durch gleichzeitige Muskel- und Serumanalysen nachgewiesen werden. Zwar ersieht man aus Tabelle 13, daß das Verhältnis Serum-K:Muskelfaser-K nach CO_2-Einwirkung absinkt; besonders ausgeprägt ist dies bei den niederen CO_2-Konzentrationen. Die Erniedrigung des Verhältnisses wäre noch ausgesprochener, wenn das Muskelfaser-K nicht anstiege. Für diese Betrachtung ist das Verhältnis des Serum-K-Nachherwertes zu dem als konstant angenommenen Faser-K-Wert in der gleichen Tabelle mit aufgezeichnet. — Wie die Tabelle 13 fernerhin erweist, steigt das Serum-K stärker als das Muskel-K an, in den Versuchen mit niederen CO_2-Spannungen ziemlich einheitlich um den 5—6fachen Betrag.

Es ist interessant und wahrscheinlich kein Zufall, daß die Masse der quergestreiften Muskulatur, die mit 45% des Körpergewichts sicher nicht zu hoch angesetzt ist, um etwa das Fünffache die Gesamtmenge des Blutes übertrifft. Als überraschendes Ergebnis würde hieraus folgen, daß der intra- und extrazelluläre K-Anstieg bei den niederen CO_2-Konzentrationen ungefähr gleich groß sei, somit also zwischen dem K-Anstieg im Serum und im Muskel Gesetzmäßigkeiten bestünden *. Bei den höheren und hohen CO_2-Spannungen verwischen sich die Beziehungen wegen der hier nur geringfügigen Erhöhung des Serum-K.

Welcher Mechanismus ist nun für die Na-Bindung an den Muskel anzunehmen und welcher Art sind die Ionenbewegungen, die hierdurch ausgelöst werden? Am nächsten liegt die Annahme, daß auch das Na in den Dienst des Säure-Basenhaushaltes des Muskels gestellt

* Eine solche Betrachtungsweise hätte jedoch zur Voraussetzung, daß der extrazelluläre K-Anstieg im wesentlichen nur das Serum und nicht die gesamte extrazelluläre Flüssigkeit, die mit 20% des Körpergewichtes angesetzt werden darf, beträfe. Diese Frage läßt sich vorläufig nicht entscheiden.

wird. Denn auch das Na ist in der Lage, durch Absättigung saurer Valenzen die Pufferungskraft der Muskelzelle zu erhöhen. Wie schon in anderem Zusammenhang angedeutet, ist das Na als hydrolytisch an die Muskelmembran adsorbiert zu denken. Indem nun durch das Na Säuregruppen der eiweißhaltigen Grenzflächen adsorptiv besetzt werden, müssen auch bei diesem Prozeß $H^{\cdot}$ frei werden. Es ist also auch für das Na ein Austausch gegen $H^{\cdot}$ anzunehmen, nur ist der Mechanismus hierfür ein anderer.

Daß ein solcher *$Na^{\cdot}/H^{\cdot}$-Austausch im Prinzip möglich ist*, konnte in früheren Untersuchungen von Hudoffsky, Malorny und Netter[13] am Beispiel der Kochsalzvergiftung gezeigt werden. Danach kam es aus reaktionsregulatorischen Gründen zu einer starken, adsorptiven Na-Bindung an die Muskelfaser. Eine K-Abgabe wurde in diesen Versuchen vermißt.

Bei fortgesetzter $H^{\cdot}$-Vermehrung scheinen indessen die adsorptiven Kräfte der Na-Bindung verringert zu werden, da es bei hohen CO_2-Konzentrationen zu einer Na-Abschwemmung aus dem Muskel kommt. Die geringere Haftfestigkeit des Na geht übrigens auch daraus hervor, daß bereits im ersten Stadium der Erholung, wie noch zu zeigen sein wird, das zusätzlich aufgenommene Faser-Na wieder demobilisiert wird. Die Reversibilität der Erscheinungen erfolgt also am schnellsten an den Fasergrenzschichten.

3. Einfluß hoher CO_2-Konzentrationen.

Der Anstieg des Na, der bei niederen CO_2-Spannungen gut ausgeprägt war und als erfolgreiche Regulation gegen die Gewebssäuerung aufgefaßt werden konnte, wird bei höheren Spannungen vermißt. Beim Kaninchen ist sogar ein deutlicher Abfall unter den Ausgangswert zu beobachten (Tabelle 14). So sinkt das Faser-Na von 17,7 auf 12,1 mMol/kg Frischmuskel. Als Ursache hierfür ist fraglos die $H^{\cdot}$-Vermehrung anzunehmen. Trotzdem bleibt es schwierig, diesen Befund zu erklären*. Im Blut steigt bei den gleichen Tieren das Na um 7,8 mMol/l an, wie sich aus dem Verhalten der Na/Cl-Quotienten ergibt. Es handelt sich also offenbar um eine Na-Abschwemmung aus dem Muskel in die Gewebsflüssigkeit und in die Blutbahn.

Ist nun die primäre Ursache für diesen Effekt im Blut oder im Muskel zu suchen? Das Blut kann bei ständig steigender CO_2-Spannung bemerkenswert lange sein p_H konstant halten. Von etwa 80 mm CO_2 ab kann die Azidose jedoch nicht mehr genügend kompensiert werden. Unter diesem Gesichtswinkel betrachtet, würde die Alkalieinwanderung ins Blut dann als Schutzversuch des Körpers gegen den $H^{\cdot}$-Anstieg im Blut zu werten sein. Die möglichst lange Konstanterhaltung des Blut-p_H ist wegen der hohen Bedürfnisse anderer Organe, wie z. B. des Gehirns, für den Körper offenbar von größerer Wichtigkeit als die p_H-Regulation im Muskel. Es ist aber auch möglich, daß die in die Gewebszellen

* Denn nicht jede Form von Azidose führt zu Faser-Na-Abnahmen. So nimmt z. B. bei der NaCl-Azidose das Faser-Na eindeutig zu. Dieses Verhalten ist offenbar auf das große Na-Angebot zurückzuführen und als Kompensationsversuch des Körpers aufzufassen. Bei der NH_4Cl-Azidose, die orientierungshalber in wenigen Versuchen erzeugt wurde, vermißte ich den Na-Anstieg.

Tabelle 14. *Mineralverschiebungen im Kaninchenmuskel bei höheren CO_2-Konzentrationen* (75—87 mm CO_2).

Nr.		Gesamtmuskel (mg-%)			Na_E/Cl_E	Faser-Na
		K	Na	Cl		
13	vorher	398	56,8	36,4	(0,668)	35,6
	nach CO_2	401	55,7	49,3	(0,714)	23,4
14	vorher	418	61,8	45,6	0,613	38,1
	nach CO_2	412	61,0	51,6	0,797	22,7
15	vorher	371	74,2	52,1	0,699	43,0
	nach CO_2	415	67,9	51,8	0,704	35,9
16	vorher	427	52,5	36,5	0,763	28,0
	nach CO_2	442	51,4	34,2	0,717	29,4
Mittelwerte	vorher	404	61,3	42,7	0,686	36,2
	nach CO_2	418	59,0	46,7	0,733	27,9

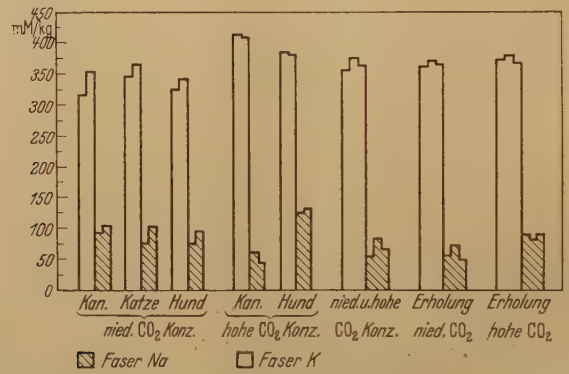


Abb. 2. Na- und K-Gehalt der Muskelfasertrockensubstanz in mMol/kg. Die linken Schenkel geben die Höhe der jeweiligen Ausgangswerte an, rechts anschließend die Werte nach Einwirkung verschiedener CO_2-Konzentrationen. Die Gegensätzlichkeit der Alkalibewegungen nach Erhöhung der CO_2-Spannung bzw. Erholung ist aus der dritten Säule zu erkennen.

eindringenden H-Ionen hier mit Zunahme ihrer Konzentration die kolloidchemischen Eigenschaften der Membranen und damit auch die Adsorptionsbedingungen verändern. Die Klärung dieser Frage muß zunächst noch offen bleiben.

Bemerkenswert ist, daß im Frischmuskel bei den Kaninchen das K um 3,6 mMol/kg ansteigt (s. Tabelle 14). Da nun zufällig das Faser-Na um genau den gleichen Betrag absinkt, könnte man geneigt sein, einen volläquivalenten Na-K-Austausch anzunehmen. Dies wäre aber ein Irrtum. Denn bei Berechnung auf die prozentische Trockensubstanz der Muskelfaser, die in diesen Versuchen eine Erhöhung um 4,4% erfährt, zeigt sich, daß das K von 411 auf 407 mMol/kg abfällt (Abb. 2). Das Faser-Na macht diese Bewegung, auf Trockensubstanz berechnet, in noch verstärktem Maße mit; es sinkt von

62,4 auf 46,1 mMol/kg Trockensubstanz ab. Die Bedeutung der Trockensubstanzbestimmung geht hieraus hervor.

Die K-Abnahme ist der besonderen Betonung vor allem deswegen wert, weil das osmotische Übergewicht des Blutes unter den gewählten Bedingungen bestehen bleibt bzw. sogar vergrößert wird. Der Muskel versucht augenscheinlich das osmotische Ungleichgewicht durch eine verstärkte Wasserabgabe zu beseitigen.

Die K- und Na-Bewegungen verlaufen also auch unter dem Einfluß zunehmender Säuerung des Körpers gleichsinnig, in diesem Falle aber im Sinne einer Abnahme.

Die einzelnen Tierarten zeigen sich der CO_2-Belastung gegenüber verschieden empfindlich. Die Hunde sind offenbar widerstandsfähiger als die Kaninchen. Wahrscheinlich ist die Ursache in besonderen Eigentümlichkeiten des intermediären Stoffwechsels zu sehen, der durch die Entstehung fixer Säuren bei diesen Tieren schon normalerweise mehr belastet ist.

In Tabelle 12b sind einige Versuche aufgeführt, wo Hunde zuerst niederen und danach höheren CO_2-Spannungen ausgesetzt wurden. Hierbei ließ sich in besonders eindrucksvoller Form die Gleichsinnigkeit der K- und Na-Bewegungen beweisen.

Die Versuche wurden so geleitet, daß nach Ausschaltung einer vorderen Extremität aus dem Kreislauf zunächst CO_2-Spannungen bis zu 40 mm zur Einwirkung kamen. Nach zweistündigem Verweilen in diesem Luftgemisch wurde entweder Muskulatur auf operativem Wege entnommen oder bei einer weiteren Extremität eine Gefäßunterbindung durchgeführt. Danach wurden die Tiere höheren CO_2-Spannungen, die mehr als doppelt so hoch gewählt wurden, ausgesetzt. Die Beendigung der Versuche erfolgte nach Ablauf von zwei weiteren Stunden in der üblichen Weise.

Bei den niederen CO_2-Spannungen vermehrt sich das Faser-Na um 70% und das Faser-K um etwa 10% der Analysenausgangswerte. In mMol/kg Frischmuskelfaser ausgedrückt, steigt das Na um 9,7 und das K um 9,0 mMol. Die Äquivalenz ist überraschend, auch wenn es sich hierbei sicher nur um ein zufälliges Zusammentreffen handelt. Nach Einwirkung höherer CO_2-Konzentrationen zeigt sich für beide Kationenarten ein deutliches Absinken. Von den erreichten Werten fällt das Faser-Na um 5,8 mMol und das Faser-K um 6,1 mMol/kg Frischsubstanz ab. Auch hier wieder eine auffallende Gleichmäßigkeit der Ionenbewegungen; die Ausgangswerte werden nicht ganz erreicht.

Es sollen nun noch einige weitere Versuche besprochen werden, in denen bedeutend gesteigerte CO_2-Konzentrationen zur Anwendung kamen (Tabelle 15). Wegen ihrer geringeren Empfindlichkeit wurden auch hierfür Hunde gewählt. Es zeigte sich, daß die Tiere 200—250 mm CO_2 relativ gut vertrugen. Im Versuchskasten wurde,

Tabelle 15. *Mineralverschiebungen im Muskel des Hundes bei schwerer CO_2-Vergiftung* (191—254 mm CO_2).

Nr.		Gesamtmuskel (mg-%)			$\frac{Na_E}{Cl_E}$	Muskelfaser (mg-%)		Trockensubstanz in %	
		K	Na	Cl		K	Na	Muskel	Blut
10	vorher	354	101,4	64,4	0,829	409	56,7	22,4	18,8
	nach CO_2	378	104,6	61,0	0,785	427	65,5	22,2	18,4
11	vorher	357	103,4	50,2	0,759	394	73,7	23,8	21,1
	nach CO_2	388	106,2	55,0	0,780	432	72,2	24,2	20,4
14	vorher	353	125,5	19,5	0,793	362	115,3	24,3	20,9
	nach CO_2	356	134,4	25,6	0,798	369	120,8	24,7	18,6
15	vorher	349	86,3	59,4	0,751	392	47,9	24,8	22,1
	nach CO_2	332	86,9	56,6	0,759	368	49,9	24,6	21,0
16	vorher	348	93,2	62,5	0,769	396	52,6	23,2	21,6
	nach CO_2	354	89,3	58,3	0,819	358	42,9	23,5	19,1
17	vorher	367	118,2	29,1	0,746	384	103,2	24,0	19,6
	nach CO_2	365	120,3	25,6	0,742	378	107,2	24,0	19,2
Mittelwerte	vorher	355	104,7	47,5	0,775	390	74,9	23,8	20,7
	nach CO_2	362	107,0	47,0	0,780	389	76,4	23,9	19,5

nachdem die narkotisierten Hunde eingesetzt waren, die Luft entsprechend mit Sauerstoff angereichert. Durch Einströmenlassen von CO_2 wurde die gewünschte hohe Konzentration in wenigen Minuten erreicht. Nach einem anfänglich ziemlich starken Erregungszustand entwickelte sich bei den Tieren bald das Bild der tiefen CO_2-Narkose. Im Muskel blieb der K-Gehalt, auf die Faser berechnet, unverändert; das Na stieg um 0,65 mMol/kg an, d. h. lag innerhalb der Fehlergrenze.

Aus den geschilderten Versuchen geht hervor, daß *bei der ausgeprägten CO_2-Azidose keine Kationenbewegungen an die Muskelfaser* zu beobachten sind. Hierbei treten die individuellen Schwankungen je nach Empfindlichkeit stärker hervor. Bei den hohen CO_2-Konzentrationen werden alle Versuche des Körpers zur Reaktionsregulation im Blut und Gewebe sinnlos. Die Prävalenz der $H^{\cdot}$ kann nicht mehr ausgeschaltet werden. Ein großer Teil der Eiweißkörper liegt jetzt im entionisierten Zustand vor.

Die H-Ionen entfalten ihre depressive Wirkung nicht nur auf die Regulationen des Elektrolytsystems, sondern auch auf eine Reihe anderer Organfunktionen, die bei niederen CO_2-Spannungen mit Erfolg in Gang gesetzt werden. Erwähnt sei nur, daß z. B. Atemfrequenz und -tiefe sich unter dem Einfluß der hohen CO_2-Konzentrationen verringern.

4. Reversibilität der Mineralveränderungen.

Verläßt man eine CO_2-haltige Atmosphäre, so verschwinden die lästig empfundenen Reizerscheinungen auf den Atmungsapparat

augenblicklich. Die Kreislaufwirkungen gehen sogar so schnell zurück, daß die plötzliche Umstellung zum Auftreten neuer Störungen Anlaß gibt. So kommt es beim Menschen zum Auftreten von Schwindelgefühlen, heftigen Kopfschmerzen sowie zu medullären Reizsymptomen in Form von Übelkeit und Erbrechen. Die Spontanreversibilität der gesetzten Veränderungen findet ihre Begründung in der hohen Diffusionsgeschwindigkeit des CO_2 und in seiner leichten Ausscheidung auf pulmonalem Wege. Dementsprechend ist zu erwarten, daß auch die unter CO_2 erfolgten Mineralverschiebungen nach Wiederherstellung normaler Umweltbedingungen und nach Verstreichen einer gewissen Erholungszeit wieder dem Ausgangsgleichgewicht zustreben werden. Der Klärung dieser wichtigen Frage dienten einige Versuche, die im folgenden wiedergegeben seien.

Versuchsanordnung. In Narkose Unterbindung der A. axillaris sin. Blutentnahme aus A. carotis. Überführung in den Versuchskasten. Nach 3stündiger

Tabelle 16. *Erholung nach leichter und schwerer CO_2-Vergiftung. Versuche an Hunden.*

Nr.		Gesamtmuskel (mg-%)			$\frac{Na_E}{Cl_E}$	Muskelfaser (mg-%)		Trockensubstanz in %	
		K	Na	Cl		K	Na	Muskel	Blut
	a) Nach Einwirkung von 36—55 mm CO_2.								
4	vorher	352	78,3	58,1	0,683	391	43,9	24,9	18,4
	nach CO_2	397	92,0	50,6	0,725	437	62,2	24,9	17,0
	nach Erholung	386	70,8	57,0	0,734	431	33,1	24,5	17,6
7	vorher	331	66,2	50,4	0,733	362	32,7	24,8	22,0
	nach CO_2	320	67,3	46,2	0,743	347	36,7	25,4	22,4
	nach Erholung	325	61,2	46,9	0,749	354	29,1	26,0	22,4
8	vorher	354	78,4	72,3	0,697	409	33,1	24,7	20,9
	nach CO_2	362	76,1	55,6	0,746	408	39,1	25,1	20,0
	nach Erholung	368	61,1	42,5	0,763	399	31,2	25,9	19,4
Mittelwerte	vorher	346	74,3	60,3	0,704	387	36,6	24,8	20,4
	nach CO_2	360	78,5	50,8	0,738	397	46,0	25,1	19,8
	nach Erholung	360	64,4	48,8	0,749	394	31,1	25,5	19,8
	b) Nach Einwirkung von 175—254 mm CO_2.								
12	vorher	372	106,7	55,8	0,759	419	74,0	24,6	21,1
	nach CO_2	376	102,7	58,4	0,804	429	65,1	24,5	20,4
	nach Erholung	348	111,8	59,9	0,820	397	73,2	24,6	21,0
15	vorher	349	86,3	59,4	0,749	392	48,0	24,8	22,1
	nach CO_2	332	86,9	56,6	0,758	368	50,1	24,6	21,0
	nach Erholung	308	89,2	57,4	0,727	341	53,9	25,4	21,9
16	vorher	348	93,2	62,5	0,770	355	46,9	23,2	21,6
	nach CO_2	354	89,3	58,3	0,806	400	45,2	23,5	19,1
	nach Erholung	378	88,0	61,3	0,819	436	44,4	23,5	18,7
Mittelwerte	vorher	356	95,4	59,2	0,793	389	56,3	24,2	21,6
	nach CO_2	354	93,0	57,8	0,789	399	53,5	24,2	20,2
	nach Erholung	345	96,3	59,5	0,755	391	57,2	24,5	20,5

Einwirkung niederer bzw. hoher CO_2-Konzentrationen Herausnahme aus dem Tank. Blutentnahme. Unterbindung der A. femoralis sin. und A. axillaris d., dann Unterbringung des Tieres in einem warmen, vor Zugluft geschützten Raum. Nach 2—3 Stunden Erholungszeit Tötung des Tieres durch Entbluten.

In Tabelle 16 sind die Elektrolytveränderungen in der Muskulatur nach leichter und schwerer CO_2-Vergiftung sowie nach Erholung von der CO_2-Einwirkung zusammengestellt. Die Reversibilität der K- und Na-Bewegungen im Gesamtmuskel und in der Muskelfaser ist offenkundig. Wahrscheinlich hätte eine wesentlich kürzere Erholungszeit bereits genügt.

Bei der leichten CO_2-Vergiftung ist der Anstieg des Faser-K geringer als in anderen Versuchen. Er beträgt nur 2,5 mMol/kg Frischsubstanz. Der Abfall nach Erholung ist gering, jedoch erkennbar. Der Faser-Na-Anstieg mit 4,1 mMol/kg ist auch nicht sehr hoch. Um so deutlicher ist der Na-Abfall. Mit 6,5 mMol/kg sinkt er sogar unter die Norm. Dieses Verhalten entspricht unseren Vorstellungen von der leichten Abschwemmbarkeit des Na und seiner Funktion als Reaktionsregulator des Muskelgewebes.

Daß bei den K-Bewegungen osmoregulatorische Gründe den Vorrang haben, zeigt sich in den Versuchen mit hohen CO_2-Konzentrationen. Dabei tritt sogar erstmalig eine gewisse Gegensätzlichkeit der K- und Na-Verschiebungen auf. Allerdings ist weder in den einzelnen einander entsprechenden Muskeln noch bei den hier angegebenen Mittelwerten der einzelnen Tiere ein äquivalentes Verhalten festzustellen. Im Mittel nimmt das Faser-Na um 1,2 mMol ab, während das Faser-K um 2,5 mMol/kg zunimmt. Die Na-Abnahme ist auf den bereits erwähnten depressiven H^+-Effekt zurückzuführen. Beachtenswert ist, daß in der Restitutionsphase sowohl das K wie auch das Na in guter Annäherung ihre Ausgangshöhe wieder erreichen.

Bei Umrechnung auf die Trockensubstanz sind im großen und ganzen die gleichen Veränderungen des Muskelalkalis zu beobachten (s. Abb. 2). Aus Gründen der besseren Vergleichsmöglichkeit sind in der Abbildung die Analysenwerte in mMol/kg Trockensubstanz der Muskelfaser ausgerechnet.

In der Tabelle 16 sind die prozentischen Trockensubstanzen für Muskel und Blut mit angeführt. Wie man sieht, kehrt die Trockensubstanz des Muskels nicht zum Ausgangswert zurück, sondern steigt in den meisten Fällen sogar noch weiterhin an, während die Trockensubstanz des Blutes keine weiteren Abnahmen zeigt. Dies steht im Einklang mit der auch in unseren Versuchen verstärkt einsetzenden Diurese in der Erholungsphase. Auf die eingehenden Wasserbilanzuntersuchungen von K. E. Schäfer[40], vor allem vor und nach chronischer CO_2-Einwirkung, sei verwiesen.

5. Bedeutung des Zeitfaktors. Fragen der chronischen CO_2-Einwirkung.

Die charakteristischen Kationenanhäufungen in der Muskulatur lassen sich bereits nach knapp 2 Stunden feststellen. Dehnt man die Dauer des Versuches bis zu 6 Stunden aus, so beobachtet man kein stärkeres Ansteigen des Faser-Na. Bei den Kaninchenversuchen scheint bei längerem Aufenthalt in CO_2-haltiger Atmosphäre der Anstieg sogar weniger ausgeprägt zu sein. Jedenfalls wird die höchste Na-Zunahme nach $2^1/_2$stündiger CO_2-Einwirkung beobachtet. Dieser interessante Befund läßt sich vielleicht so erklären, daß bei kurzdauernder CO_2-Zufuhr wegen der augenblicklichen Gefahr eine größere Basenaufnahme in den Muskel erfolgt als nötig, und daß der Körper im Rahmen der Anpassung nach einiger Zeit die über das Ziel hinausgehende Regulierung zum Teil wieder rückgängig macht. Gewisse Unterschiede im Chemismus der Mineralien, wie sie für die akute CO_2-Wirkung als charakteristisch beobachtet werden, bleiben aber auch im langdauernden CO_2-Versuch, wenn auch weniger stark ausgeprägt, bestehen. Jedenfalls steht für den akuten Versuch soviel fast, daß eine Verdreifachung der CO_2-Einwirkungszeit die bereits nach 2 Stunden feststellbaren Veränderungen im Mineralverhalten nicht aufhebt, aber auch nicht verstärkt.

Im Anschluß an die akuten CO_2-Vergiftungsversuche wurde an einigen Kaninchen auch die Wirkung niederer CO_2-Konzentrationen nach 2wöchiger Einwirkung geprüft.

Versuchsanordnung. Die Tiere wurden auf Haferdiät gesetzt. 5 Tage später Amputation des linken Unterschenkels in Narkose. Blutentnahme. Wundheilung wurde abgewartet. Einsetzen der Tiere in einen 400 Liter fassenden Behälter. In einen völlig gleichgebauten Behälter wurden Kontrolltiere eingesetzt. Während der Dauer des Versuches wurden die Behälter mit 2 Liter Preßluft/Minute unter Benutzung von Rotamessern durchströmt. In den Versuchstank strömten über einen geeichten, hochempfindlichen Gasströmungsmesser fortgesetzt kleine CO_2-Mengen aus einem Gasometer ein, so daß in der Behälterluft ein 3% CO_2 enthaltendes Gemisch entstand. Alle 10 Min. wurde die Luft in den Behältern durch Ventilatoren umgewälzt. Temperatur- und Feuchtigkeitsgehalt wurden registriert und in normalen Grenzen gehalten. Die Atmungsluft im Versuchs- und Kontrollbehälter wurde 2—4mal täglich analysiert. Versuchsdauer etwa 14 Tage.

Da die Versuche aus äußeren Gründen nur an 4 Tieren zuzüglich einiger Kontrolltiere angestellt werden konnten, dürfen aus den folgenden Ergebnissen keine weitgehenden Schlüsse gezogen werden. Im Serum und im Blut waren die Veränderungen recht uncharakteristisch. Der für die akute CO_2-Wirkung kennzeichnende Anstieg des Serum-K wurde nur bei 2 Tieren andeutungsweise beobachtet. Der K-Gehalt des Muskels blieb in 2 Fällen unverändert; in einem Fall stieg er um etwa 8 mMol/kg Frischmuskel an, im anderen fiel er um 5 mMol/kg ab. Einheitliche Bewegungen im Sinne einer Vermehrung

zeigte lediglich das Faser-Na. Im Mittel von 4 Versuchen stieg es von 16,1 auf 22,6 mMol/kg Frischmuskel an.

6. Die Frage nach der Herkunft der mobilisierten Basen im Zusammenhang mit der Wechselwirkung zwischen Leber und Muskel.

Im Verlaufe der CO_2-Einwirkung kommt es zu einem Basenanstieg in der Blutflüssigkeit und in der Muskulatur. Dieser wichtige Befund ergibt sich eindeutig aus den bisher mitgeteilten Untersuchungen. Es lohnt sich, diese Beziehungen noch klarer herauszustellen. Zu diesem Zwecke braucht man nur die Summe der beiden Hauptbasen K und Na aus sämtlichen Versuchen z. B. für Serum und Frischmuskelfaser in molaren Konzentrationen zu errechnen und diese Verhältnisse bildlich zur Darstellung zu bringen. Hierbei muß allerdings die verschiedene Wirkung niederer, höherer und hoher CO_2-Spannungen auf den Basenhaushalt noch besonders berücksichtigt werden. Darum ist es notwendig, die Analysenergebnisse entsprechend zu unterteilen.

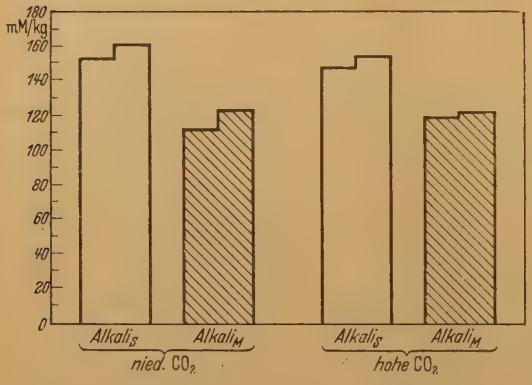


Abb. 3. Vergleichende Gegenüberstellung des Gesamtalkalis in mMol/kg im Serum und in der frischen Muskelfaser. Die linken Blockhälften geben die Ausgangswerte an, die rechten die Endwerte nach CO_2-Einwirkung.

In Abb. 3 sind nun die Gesamtalkalikonzentrationen vor und nach CO_2-Wirkung im Serum, das gleichsam als Vertreter des extrazellulären Raumes gelten möge, und im Muskel, der die zelluläre Phase verkörpern soll, zusammengestellt (Mittelwerte aus über 800 Einzelanalysen). Man sieht zunächst, wenn man die Basengrößen der Ausgangswerte miteinander vergleicht, in sehr eindrucksvoller Weise, daß der Gesamtalkalibestand des Serums schon normalerweise um 30% höher ist als der des Muskels. Dieses Verhältnis sagt zunächst noch nicht viel über die verschiedene Pufferungsgröße der beiden Phasen aus, da hierzu der Anteil der neutralisierenden Anionen mit in Rechnung gesetzt werden müßte. Trotzdem scheint hieraus so viel hervorzugehen, daß bei der CO_2-Belastung das Muskelgewebe in hohem Grade von der Säuerung bedroht wird. Zwar stehen den Muskelzellen als weitere Puffer noch die Gewebsproteine zur Verfügung. Im Vergleich hierzu ist aber das Serum durch die Mitwirkung

des mächtigen Hämoglobinpuffers der roten Blutzellen in noch stärkerem Maße geschützt. Denn das Serum liegt in unseren Versuchen ja niemals in „abgetrenntem" Zustande vor. Unter diesen Umständen ist es nicht verwunderlich, daß der Körper bei Gefährdung durch CO_2 im Rahmen der einzuleitenden Notfallsfunktionen sein dringend benötigtes Gewebe, die Muskulatur, durch Basenaufnahme schützt.

Die Basenvermehrung in der Muskelfaser bei den niederen CO_2-Spannungen ist größer als im Serum; sie beträgt 12,1 mMol/kg und ist signifikant. Die Basen des Serums steigen demgegenüber nur um 8,0 mMol/l an*; allerdings kommt hier als unterstützend hinzu, daß die Chloride des Serums von 125 auf 123 mMol/l abfallen. Bei den höheren und hohen CO_2-Spannungen beträgt der Basenanstieg des reinen Muskelgewebes nur 3,0 mMol/kg. Er wäre noch geringer bzw. würde sich der Basengehalt sogar vermindern, wenn in der Abb. 3 nur die ganz hohen CO_2-Konzentrationen berücksichtigt worden wären. Demgegenüber ist der Basenanstieg des Serums noch ziemlich stark ausgeprägt. Die Basenvermehrung beträgt hier 6,9 mMol/l. Berücksichtigt man indessen auch hier das Verhalten der Chloride, so findet man, daß sie von 120 auf 122 mMol ansteigen. Daraus geht hervor, daß die Alkalivermehrung im Serum besonders bei den hohen CO_2-Konzentrationen zum Teil durch einen Einstrom NaCl-haltiger Flüssigkeit vorgetäuscht wird.

Nach der eingehenden Würdigung des Alkaliverhaltens im Serum und Muskel ist nun die *Frage nach der Herkunft der Basen* zu beantworten.

Frühere Untersucher, zu denen in erster Linie Henderson und Haggard [23] gehören, beobachteten nach CO_2-Einwirkung eine Alkalivermehrung im Blut und erklärten dies durch eine „Alkalieinwanderung aus dem Gewebe". Sie konnten aber das hierfür in Frage kommende Gewebe nicht näher bezeichnen. Von anderen Untersuchern wurde sogar unter Gewebe in gleicher Weise auch die Gewebsflüssigkeit verstanden. Doch ist eine solche Betrachtungsweise jedem weiteren Klärungsversuch nur hinderlich. Ganz abwegig ist es aber, ohne entsprechende Analysen die Muskulatur als K-Lieferanten anzunehmen, lediglich mit der Begründung, daß es Fälle gebe, wo eine Vermehrung des Serum-K auf eine K-Abgabe des Muskels zurückzuführen sei.

Bei der Bearbeitung der vorliegenden Fragestellung wurde das Augenmerk mehr und mehr auf die Leber gelenkt, dies mit um so mehr Berechtigung, als Wechselbeziehungen zwischen Muskel und Leber seit langem bekannt sind. So besteht z. B. über den Kohlenhydratstoffwechsel eine besonders enge Verknüpfung der beiden Organsysteme. Die Leber liefert den Hauptenergieträger für die

* Für das K der Muskelfaser beträgt nach Errechnung aus den gewonnenen Analysen die signifikante Differenz 2,62 und für das Faser-Na 2,00. Beim Serum-K hat die signifikante Differenz einen Wert von 4,54 und beim Serum-Na einen Wert von 3,94.

anaeroben Spaltprozesse im Muskel, den phosphorilierten Zucker, und übernimmt dafür im Kreislaufprozeß das dem Muskel entstammende Laktat, um es auf oxydativem Wege bzw. durch Resynthese zu Glykogen zu beseitigen. VERZÁR und SOMOGYI [41] sowie FENN [42] stellten das K in den Dienst des Kohlenhydrat-Kreislaufprozesses. Daß zwischen Muskel-K und Leber-K Zusammenhänge bestehen, konnte FENN [43] schon in früheren Untersuchungen nachweisen. Er fand, daß die Leber bis zu 31% der bei der Muskelarbeit an das Blut abgegebenen K-Menge aufnehmen kann. Eine weitere wichtige Wechselbeziehung zeigt sich in der schon angedeuteten vasomotorischen Umstellung. Die Kohlensäure bewirkt eine Drosselung der Blutzufuhr zu den inneren Organen und führt hierdurch mindestens im entsprechenden Ausmaß eine verstärkte Durchblutung der Peripherie herbei. Aus Literaturangaben geht hervor, daß auch die Milz sich an der Blutmobilisierung beteiligt.

Einen guten Überblick über die Pufferungsverhältnisse des Blutes, des Muskels und des Lebergewebes gewähren die Gesamtkohlensäurebestimmungen von DANIELSON und HASTINGS [9]. Sie fanden in manometrischen Messungen nach der Methode von VAN SLYKE und NEILL für den Muskel des Kaninchens 10—12 und den des Meerschweinchens 12—13 mMol CO_2/kg, für die Leber 13—19 mMol/kg * und für das Gesamtblut 18,5 bzw. 20,6 mMol CO_2/l. Diesen Messungen zufolge ist das Pufferungsvermögen der Leberzellen zwar geringer als das der roten Blutkörperchen, aber noch deutlich höher als das des Muskels anzusetzen.

Unter diesem Gesichtswinkel betrachtet, erscheinen die bereits beschriebenen Trockengewichtsverminderungen des Lebergewebes unter dem CO_2-Einfluß in einem anderen Licht. Ähnlich wie in den roten Blutzellen wirkt sich die Erhöhung der CO_2-Spannung auch in den Leberzellen aus. Durch Basenbereitstellung kommt es auch hier zu einer verstärkten Bikarbonatbildung und im Gefolge hiervon zu einer Steigerung des osmotischen Druckes; nur können sich die HCO_3' wegen der Anionenimpermeabilität der Lebezrellmembran nicht gegen andere Anionen austauschen. Daß im Falle des Lebergewebes an die Stelle des Anionenaustausches der Kationenaustausch tritt, dafür erbringen, wie ich glaube, die vorliegenden Untersuchungen einige überzeugende Hinweise. Gemäß Tabelle 17 gibt die Leberzelle sowohl $K^·$ wie auch $Na^·$ ab. Im Austauschwege muß sie hierfür $H^·$ aufnehmen. Hierdurch wird die Reaktion des Zellinneren so lange nicht wesentlich saurer, als genügend HCO_3'-Ionen zur Aufrechterhaltung des Säure-Basengleichgewichtes gebildet werden können. Die Ausarbeitung der hier beschriebenen Ionenbewegungen und Wasserverschiebungen zu einem heterogenen System mit seinen klar übersehbaren Beziehungen zum p_H und zu differenten Gewebsgasen im Sinne HENDERSONS muß

* LEUTHARDT konnte für das Lebergewebe nur die höheren Werte bestätigen und erklärte die niederen durch Verluste bei der Aufbereitung.

späteren Untersuchungen überlassen bleiben, dürfte aber wegen des Eigenstoffwechsels der Zellen mit den größten Schwierigkeiten verbunden sein. Die Bewegungen der Alkalibasen im Lebergewebe erfolgten im allgemeinen gleichsinnig. In einem einzigen Falle erhöhte sich der Gesamtalkalibestand in mäßigem Umfange. Im Mittel aller Versuche betrug die Alkaliabnahme 8,76 mMol/kg Frischgewicht. Bei Anwendung niederer CO_2-Spannungen schien sie ausgeprägter zu sein. Es sei darauf hingewiesen, daß hinsichtlich der Kationenaustauschvorgänge beim Muskel auch eine analoge Abhängigkeit von der angewandten CO_2-Spannung festzustellen war. Bei Umrechnung auf Lebertrockensubstanz ist der prozentuale Alkaliabfall etwas geringer als bei Berechnung auf Frischsubstanz.

Tabelle 17. *Verhalten der Alkalibasen in der Leber vor und nach CO_2-Einwirkung.*

Nr.	Tierart	Vol.-% CO_2	mg-% K	mg-% Na	mg-% Cl	K in mMol/kg	Na in mMol/kg	Alkalidifferenz in mMol/kg
2	Hund	5,8—6,7	265 244	101,3 113,8	108,2 129,1	— 5,37	— 2,78	— 8,15
3	Hund	5,1	245 242	107,9 98,1	93,7 86,1	— 0,77	— 5,65	— 6,42
5	Hund	11,8	281 302	85,2 84,0	91,0 91,7	+ 5,37	+ 1,22	+ 6,59
8	Hund	5,3—6,4	285 268	92,3 110,1	53,6 108,8	— 4,35	—14,05	—18,40
2	Kaninchen	4,5—7,0	221 245	156,9 108,7	133,4 124,1	+ 6,14	— 20,4	—14,26
12	Kaninchen	1,8—2,3	247 223	93,2 81,5	94,2 71,6	— 8,70	— 2,61	—11,31
13	Kaninchen	9,9—11,4	265 250	69,8 74,1	83,3 82,1	— 3,84	+ 0,43	— 3,41
15	Kaninchen	10,6—10,7	248 246	109,6 95,4	92,6 97,1	— 0,51	— 7,27	— 7,78
16	Kaninchen	11,1—11,5	278 221	84,5 84,7	85,3 93,2	—14,60	— 1,09	—15,69

Die Berechnungsweise des Na in Tabelle 17 bedarf noch einiger erklärender Bemerkungen. Wenn auch die Cl-Freiheit der Leberzelle noch nicht sicher bewiesen ist, so scheint doch soviel festzustehen, daß bei Berücksichtigung der Donnan-Verteilung jedenfalls nur sehr geringe Cl-Mengen auf die Zellen entfallen können. Truax [33] ist der Ansicht, daß die Leberzelle als solche kein Cl enthält. Bemerkenswert ist, daß der Cl-Gehalt der Leber, wahrscheinlich wegen seines größeren Blutreichtums, deutlich höher gefunden wird als der des Muskels, so daß der nicht dem Cl zugeordnete Na-Anteil recht gering ist und gelegentlich sogar fehlen kann. Um durch hohen Blutgehalt der Leberproben den Analysenfehler nicht zu vergrößern, wurde in den vorliegenden Versuchen im allgemeinen darauf geachtet, daß das Blut, das aus den Schnittflächen der exzidierten Leberstückchen hervorquoll, sorgfältig mit reinem Filtrierpapier abgetupft wurde. So erklärt es sich wohl, daß der Cl-Gehalt der Leberproben im ganzen gesehen etwas niedriger lag, als in der Literatur beschrieben ist. Über die Art der Bindung oder Lagerung

des überschüssigen Na im Lebergewebe sowie über seine Fähigkeit zur Permeation durch die Zellmembran kann vorläufig nichts Näheres ausgesagt werden. Manches spricht indessen dafür, daß der nicht zum Cl gehörige Anteil des Na als osmotisch wirksamer Elektrolyt in die Zelle zu verlegen ist; so z. B. die Tatsache, daß der K-Gehalt der Leberzelle um $^1/_4$—$^1/_3$ niedriger liegt als der der Muskelfaser. — Der These der Cl-Freiheit der Leberzelle folgend, wurde in den vorliegenden Untersuchungen das Na berechnet.

Versucht man, die beobachteten Alkaliabnahmen des Lebergewebes in Beziehung zu dem Basenanstieg im Muskelgewebe zu setzen, so findet man unter Berücksichtigung der Gewichtsverhältnisse, daß die Abgaben nur knapp $^1/_{20}$ der benötigten Basen ausmachen, also nicht entfernt zur Deckung des Defizits ausreichen. Die anderen parenchymreichen Organe wie Milz, Niere usw. sind nicht mit untersucht worden; sie können aber als mögliche Basenlieferanten durchaus in Betracht gezogen werden.

Hamburger [3] fand in seinen Untersuchungen mit isolierten Organzellen, daß die mit CO_2-haltigem Serum geschüttelten Milz- und Nierenzellsuspensionen prinzipiell das gleiche Verhalten zeigten wie Leberzellsuspensionen. Das Volumen der Leberzellen vergrößerte sich z. B. nach CO_2-Einwirkung um 21%. Die Analogie zu dem Verhalten der roten Blutzellen ist auffallend. Wie aus den bisherigen Untersuchungen zu ersehen ist, gehen osmotische Wasserverschiebungen in der Regel mit Ionenaustauschprozessen einher. Wegen der Gleichartigkeit im osmoregulatorischen Verhalten ist durch Analogieschluß die Annahme wohl gerechtfertigt, daß die Milz- und Nierenzellen als Basenlieferanten in Frage kommen können. Über die Größe der Pufferungskraft ist indessen nichts Näheres bekannt.

Da aber auch diese Parenchymzellen wegen der Kleinheit der Organe nicht ausreichende Basenäquivalente bereitstellen können, muß noch an die Haut und sonstige Mineraldepots gedacht werden.

Ein wichtiges Moment ist hingegen noch der besonderen Diskussion wert: Das Verhalten der Nierensekretion während der CO_2-Einwirkung. Nach Davis, Haldane und Kennaway [44] wird während der CO_2-Atmung ein an sauren Phosphaten reicher Harn gebildet; gleichzeitig wächst sein Ammoniakgehalt. Die von den gleichen Untersuchern beobachtete Diuresesteigerung vermißten Eppinger, Schwarz und Kisch [21]. Im Gegenteil stellten letztere in einzelnen Fällen sogar ein völliges Versiegen der Harnproduktion fest, das allerdings nach Absetzen der CO_2-Zufuhr von einer kräftigen Diurese gefolgt war. In der Mehrzahl unserer akuten Versuche fanden wir, daß die Harnproduktion während der CO_2-Wirkung deutlich vermindert war. Zu ähnlichen Ergebnissen kam K. E. Schäfer in langdauernden Untersuchungen am Menschen. Auch Pointner stellte in seinen chronischen CO_2-Versuchen eine Retention von Flüssigkeit und eine relativ vermehrte Ausscheidung von Chloriden fest. Alle drei Momente, die Diuresehemmung, die Ausscheidung saurer Valenzen und die Bildung des Neutralisationsammoniaks in der Niere, wirken basensparend. Eine überschlagsmäßige Berechnung ergibt, daß

z. B. allein eine Diuresehemmung während der üblichen Versuchszeit von 2—6 Stunden beim meist nicht nüchternen Tier bereits zu wesentlichen Baseneinsparungen führen kann.

Die Klärung nach der Frage der Herkunft der mobilisierten Basen muß im einzelnen noch späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, insbesondere wird zu prüfen sein, welchen Anteil hieran die inneren Organe und welchen die Nierentätigkeit haben.

Zusammenfassung.

An Hand der niedergelegten Untersuchungen läßt sich der tiefgreifende Einfluß der Kohlensäure auf den Elektrolythaushalt des Körpers gut erkennen. Wie vermutet, werden unter Mitbeteiligung des Stoffwechsels, des vegetativen Nervensystems, der Atmung, des Kreislaufs und der Nierentätigkeit alle Ionensysteme betroffen, die der Erhaltung des Säure-Basengleichgewichtes dienen. Hierdurch kommt es zu *Mineralverschiebungen*, die *mit osmotisch bedingten Wasserverschiebungen zwischen den einzelnen Systemen vergesellschaftet* sind.

Die am isolierten System des Blutes gründlich erforschten Anionenaustauschvorgänge und Wasserverschiebungen zwischen Blutkörperchen und Plasma haben auch für den intakten Gesamtorganismus volle Gültigkeit, wenn die verwischenden, regulatorischen Ausgleichsbestrebungen der Gewebe und der Gewebsflüssigkeiten genügend beachtet werden. Auf die Bedeutung der angewandten CO_2-Spannung, der Dauer der Einwirkung und der Frage, inwieweit die Erscheinungen nach Absetzen der CO_2-Zufuhr reversibel sind, wird hingewiesen.

Während im Gesamtblut das Ionensystem HCO_3'/Cl' in den Dienst des Reaktionsausgleiches gestellt wird, zeigt im Plasma die Veränderung der Relation $K^{\cdot}/Ca^{\cdot\cdot}$ den Eintritt einer sich ausbildenden vagotonen Reaktionslage an. Als Folge einer starken Vermehrung des Plasma-K und einer geringen Verminderung des ionisierten Ca steigt der K/Ca-Quotient an, bemerkenswerterweise besonders stark bei den niederen CO_2-Spannungen von 15—53 mm, während bei den höheren Spannungen von über 80 mm CO_2 der Anstieg praktisch vermißt wird.

Den *Anionenaustauschvorgängen* im System Blutkörperchen/Plasma werden in den Systemen Muskelzellen/Körpersäfte und Leberzellen/Körpersäfte *Kationenaustauschvorgänge gegenübergestellt.* Auch diese Ionenverschiebungen wirken sich offenbar regulierend auf den Säure-Basenhaushalt aus. Hierbei ist beachtenswert, daß in den beiden Gewebssystemen, offenbar aus Gründen verschiedener Pufferkapazität, die Bewegungen der Kationen in entgegengesetzter Richtung verlaufen. Die Muskelzelle nimmt zwecks Erhöhung ihres Pufferungsvermögens die beiden Alkalikationen K und Na auf, während das

Lebergewebe entsprechend seiner höheren Pufferungskraft diese Basen, in allerdings nicht äquivalentem Umfange, abgibt. Die Annahme, daß als Austauschkationen für die beiden Gewebssysteme praktisch nur $H^{\cdot}$ in Frage kommen können, wird ausführlich begründet.

Bei den Ionenbewegungen $K^{\cdot}/H^{\cdot}$ und $Na^{\cdot}/H^{\cdot}$ sind verschiedene Austauschmechanismen anzunehmen. Es spricht vieles dafür, daß die K-Aufnahme in den Muskel mehr auf einen passiven Hebemechanismus als auf aktive Kräfte zurückzuführen ist. Denn die K-Vermehrung im Serum führt ganz offensichtlich eine Störung des Verhältnisses K_i/K_a herbei. Beim Versuch, das Ionengefälle wieder herzustellen, dürfte es dann zur K-Aufnahme in den Muskel kommen. Die Annahme, daß $H^{\cdot}$ sich gegen $K^{\cdot}$ austauschen, bildet auch für den soeben beschriebenen Mechanismus die theoretische Grundlage. — Bei der Na-Aufnahme in den Muskel handelt es sich entsprechend unserer schon früher geäußerten Auffassung von der oberflächlichen Lagerung des Na an die Muskelfaser eher um eine Art Austauschadsorption gegen $H^{\cdot}$.

Die Kationenaustauschprozesse im Gewebe gehen analog den Austauschvorgängen im Blut mit osmoregulatorischen Wasserverschiebungen einher, interessanterweise in der Muskulatur und in der Leber wiederum in entgegengesetztem Sinne. Während die Trockensubstanz des Gesamtmuskels wie auch der reinen Muskelfaser infolge Wasserverlustes an das Blut ansteigt, nehmen die Leberzellen Wasser auf und sind hierin den roten Blutkörperchen vergleichbar. Die Ähnlichkeit der Leber- und Blutzellen zeigt sich, wie schon angedeutet, auch in ihrem Verhalten, den Basengehalt der Außenflüssigkeit zu vermehren, im Falle der Blutkörperchen entsprechend der Anionenpermeabilität ihrer Membran durch HCO_3'-Abgabe und im Falle der vorwiegend kationenpermeablen Leberzellen durch $K^{\cdot}$- und $Na^{\cdot}$-Abgabe.

Die Basenaufnahme in die Muskulatur bei den niederen CO_2-Spannungen ist als erfolgreiche Regulation gegen die Gewebssäuerung aufzufassen. Hierdurch wird der Gesamtalkalibestand des Muskels um etwa 10% erhöht. Bei den hohen CO_2-Spannungen versagt dieser Regulationsmechanismus. In erster Linie wird hier das leicht mobilisierbare Na von der Muskelfaser abgeschwemmt.

Die Gegensätzlichkeit der Wirkung niederer bzw. hoher CO_2-Konzentrationen zeigt sich auch am Verhalten der Alkalireserve des Blutes. Bei Anwesenheit geringer CO_2-Mengen in der Atmungsluft steigt sie bei den untersuchten Tierarten zunächst deutlich an, um bei stärkerer Erhöhung der CO_2-Spannung abzufallen. — Die Milchsäure des Blutes zeigt bei den niederen CO_2-Spannungen die Tendenz zur Erniedrigung. Hierdurch werden zusätzlich Basenäquivalente für die CO_2-Bindung frei.

Nach Absetzen der CO_2-Zufuhr kommt es in der Erholung zu einer deutlichen Rückläufigkeit der Basenverschiebungen zwischen Muskel und Blut.

Die Herkunft der mobilisierten Basen wird diskutiert. Die Leber kommt nur in geringem Umfange als Basenlieferant in Frage.

Literatur.

[1] Nasse, H.: Pflügers Arch. **16**, 604 (1878). — [2] Gürber, A.: Malys Jb. **25**, 164 (1895). — [3] Hamburger, H. J.: Osmotischer Druck und Ionenlehre, Bd. III. 1904. — [4] Henderson, L. J.: Blood. New Haven 1928. (Übersetzung Tennenbaum. Leipzig: Theodor Steinkopff 1932.) — [5] van Slyke, D. D.: Factors Affecting the Distribution of Elektrolytes, Water and Gases in Athe nimal Body, p. 18—20. Philadelphia and London 1926. — van Slyke, D. D., H. Wu and McLean, F. C.: J. biol. Chem. (Am.) **56**, 765 (1923). — [6] Mond, R. u. H. Netter: Pflügers Arch. **224**, 702 (1930). — [7] Boyle, J. and E. J. Conway: J. Physiol. (Brit.) **100**, 1 (1940). — [8] Leuthardt, F.: Biochem. Z. **306**, 399 (1940). — [9] Danielson, J. S. and A. B. Hastings: J. biol. Chem. (Am.) **130**, 349 (1939). — [10] Podolsky, F. u. G. Malorny: Pflügers Arch. **236**, 341 (1935). — [11] Malorny, G. u. H. Netter: Pflügers Arch. **238**, 153 (1936). — [12] Mond, R. u. H. Netter: Pflügers Arch. **230**, 42 (1932). — [13] Hudoffsky, B., G. Malorny u. H. Netter: Pflügers Arch. **243**, 388 (1940). — [14] Catell, McKeen and H. Civin: J. biol. Chem. (Am.) **126**, 633 (1938). — [15] Thaler, J. L.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **33**, 368 (1935). — [16] Fenn, W. O., R. Wilde and Koenemann: Amer. J. Physiol. **128**, 139 (1939). — [17] MacCallum: Univ. Calif. Publ. Physiol. Berkeley **2**, 93 (1905). — [18] Loewy, A.: Heffters Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. I, S. 83. 1923. — [19] Shaw, L. A. and A. G. Messer: Amer. J. Physiol. **93**, 422 (1930). — [20] Shaw, L. A. and A. G. Messer: Amer. J. Physiol. **100**, 122 (1932). — [21] Eppinger, Kisch u. Schwarz: Das Versagen des Kreislaufs. Berlin 1927. — [22] Smith, L. W., J. H. Means and M. N. Woodwell: J. biol. Chem. (Am.) **45**, 245 (1921). — [23] Henderson, Y. and H. W. Haggard: J. biol. Chem. (Am.) **33**, 333 (1918). - Haggard, H. W. and Y. Henderson: J. biol. Chem. (Am.) **30**, 345 (1918). — [24] Goldberger, S. e P. Rowinski: Arch. Sci. biol. (It.) **19**, 626 (1934). — [25] Himwich, H. E., E. F. Gildea, N. Rakieten and Delafield du Bois: J. biol. Chem. (Am.) **113**, 383 (1936). — [26] Brednow, W.: Z. exper. Med. **73**, 557 (1930). — [27] Limbeck, R. v.: Arch. exper. Path. (D.) **35**, 309 (1895). — [27a] Krogh, A. u. F. Nakazawa: Biochem. Z. **188**, 241 (1927). — [28] Hepp, O.: Z. Biol. **99**, 230 (1938). — [29] Heinz, E. u. H. Netter: Klin. Wschr. **1947 I**, 491. — [30] Hess, W. R.: Die Regulierung der Atmung. Leipzig: Georg Thieme 1931. — [31] Mies: Unveröffentlichte Versuche. — [32] Behrens, B.: Arch. exper. Path. (D.) **128**, 104 (1928). — [33] Eichler, O. u. L.: Arch. exper. Path. (D.) **199**, 21 (1942). — [33a] Truax, F. L.: Amer. J. Physiol. **126**, 402 (1939). — [34] Fleckenstein, A.: Persönliche Mitteilung. — [35] Eichelberger: J. biol. Chem. (Am.) **122**, 323 (1938). — [36] Manery, J. F., Danielson and A. B. Hastings: J. biol. Chem. (Am.) **124**, 359 (1938). — [37] Netter, H.: Pflügers Arch. **234**, 680 (1934). — [38] Fenn, W. O.: Amer. J. Physiol. **105**, 33 (1933). — Fenn, W. O. and Doris M. Cobb: J. gen. Physiol. (Am.) **17**, 629 (1934). — [39] Fenn, W. O. and Doris M. Cobb: Amer. J. Physiol. **112**, 41 (1935). — [40] Schäfer, K. E.: Unveröffentlichte Versuche. — [41] Verzár, F.: Schweiz. med. Wschr. **1941 II**, 878. — Verzár, F. u. J. C. Somogyi: Pflügers Arch. **245**, H. 3 (1941). — [42] Fenn, W. O.: Physiol. Rev. (Am.) **20**, 377 (1940). — [43] Fenn, W. O.: Amer. J. Physiol. **127**, 356 (1939). — [44] Davies, H. W., J. B. Haldane and E. L. Kennaway: J. Physiol. (Brit.) **54**, 32 (1920). — [45] Pointner, R.: Unveröffentlichte Versuche.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Münster in Westfalen (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. A. Loeser).

Allgemeinwirkungen und Blutbildveränderungen durch Thiouracil und 4-Methylthiouracil.

Von

Lena Fischer, Rudolf Kopf und Arnold Loeser.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Februar 1948.)

I. Einleitung.

Die seit mehreren Jahren zur Behandlung von Schilddrüsenerkrankungen in die Therapie eingeführten schwefelhaltigen antithyreoidalen Substanzen Thiouracil und 4-Methylthiouracil beanspruchen in mehrfacher Hinsicht ein besonderes Interesse. Abgesehen von ihrer Fähigkeit, die Schilddrüsenfunktion durch Einschränkung oder Aufhebung der Synthese von Schilddrüsenhormon herabzusetzen[1], sind sie selbst gelegentlich Ursache für das Auftreten einer Reihe von Nebenwirkungen geworden, welche eine besonders sorgfältige Überwachung der zu behandelnden Kranken erforderlich machen. Neben Fieber[2], Erythemen[3], Urticaria[4], Psychosen[5], Drüsenschwellungen (Mikulicz-Syndrom)[6], Mundschleimhautentzündungen[7], Knöchelödemen[8], Albuminurie[9], Leberschädigungen [0], Milzschwellungen [1], Anämie[12]. Kopfschmerzen[13], Nausea[14], Durchfällen[15] und Änderungen der Ovarialfunktionen[16] sind als schwerste Komplikationen Veränderungen des Blutbildes im Sinne einer Leukopenie[17] und Agranulozytose[18] hervorzuheben. Das Auftreten von Leukopenien und Agranulozytosen wurde schon bei den ersten Untersuchungen der von Astwood[19] aufgefundenen antithyreoidalen Substanzen beobachtet und in der Folgezeit immer und immer wieder bestätigt.

Aus der Vielzahl der Untersuchungsergebnisse seien hier nur einige als Beispiel angeführt: So fand Moore[20] bei 1091 mit Thiouracil behandelten Kranken zwischen der 2.—8. Woche der Verabreichung in 1,74% der Fälle eine Agranulozytose und in 3% der Fälle eine Leukopenie in der 3.—6. Woche. Von den Agranulozytosen verliefen 0,46% tödlich, während sich bei der Mehrzahl der übrigen Patienten die Blutveränderungen ohne Absetzen der Behandlung zurückbildeten. Auf Grund seiner Ergebnisse warnt Moore vor einer voreiligen Verwendung von Thiouracil, solange man noch nicht in der Lage ist, die Grenzen seiner Nützlichkeit und das Maß seiner Toxizität zu übersehen. Nach den Angaben von Wosika und Braun[21] soll die nach Verabfolgung von Thiouracil beobachtete Agranulozytose bei älteren Menschen häufiger auftreten als bei jugendlichen Individuen. Ebenso wie Moore beobachtete auch Gessler[22] bei 2 von 9 mit Thiouracil behandelten Hyperthyreosen eine Abnahme der Zahl der Leukozyten unter 3000.

Dabei ließ sich im Sternalpunktat dieser Kranken eine Linksverschiebung mit Zunahme der Promyelozyten und unreifen Myelozyten nachweisen. Schließlich sei hier noch eine Zusammenstellung von VAN WINKLE und Mitarbeitern[23] angeführt, die bei über 5745 mit Thiouracil behandelten Kranken in 2,5% der Fälle eine Granulozytopenie feststellen konnten.

Obwohl man die nachgewiesenen Veränderungen des Blutbildes als Ausdruck einer allgemein schädigenden Wirkung der schwefelhaltigen antithyreoidalen Substanzen zu deuten versucht, besteht bisher keine Übereinstimmung darüber, inwieweit diese von der Größe der Dosis der verabreichten Substanz und der Dauer ihrer Einwirkung abhängig sind. Während nach VAN WINKLE und Mitarbeitern[24] sowie nach LAHEY[25] die Höhe der Thiouracilgaben keinen Einfluß auf die Entstehung einer Agranulozytose haben soll, sehen sowohl HADORN und BEER[26] als auch COOKSON[27] gerade die Dosierung als das Wesentliche bei dem Zustandekommen einer Intoxikation an. Dabei muß jedoch berücksichtigt werden, daß HADORN und BEER anstelle von Thiouracil das nach klinischen Erfahrungen weniger toxische 4-Methylthiouracil anwandten. Im Gegensatz zu diesen Angaben konnte SPÜHLER[28] bei der Behandlung von 50 Hyperthyreosen mit 4-Methylthiouracil weder bei täglicher Verabreichung von 0,1 g noch von 0,375 g eine Störung der Erythro- oder Leukopoese feststellen, wobei er jedoch die Möglichkeit einer später sichtbar werdenden Schädigung auch bei der angewandten kleinen Dosis offen läßt. SCHÜRMEYER[29] behandelte 58 Kranke mit 4-Methylthiouracil (täglich 0,1 g) und sah in 50% der Fälle Veränderungen des weißen Blutbildes, die sich vor allem in Schwankungen und Abnehmen der Zahl der Leukozyten und relativer Lymphozytose äußerten. Diese Erscheinungen bildeten sich nach 12—16tägiger Behandlungsdauer, spätestens aber nach 30 Tagen wieder zurück. Nur bei einem Kranken wurde nach 20tägiger Verabfolgung von 4-Methylthiouracil ein Absinken der Leukozyten bis auf 3300 sowie ein vollständiges Fehlen der Granulozyten bei 84% Lymphozyten und 6% Monozyten beobachtet. Nach Aussetzen der Behandlung trat Erholung ein.

Wie aus den angeführten Ergebnissen hervorgeht, können sowohl Thiouracil als auch 4-Methylthiouracil neben der spezifischen Beeinflussung der Schilddrüsentätigkeit Nebenwirkungen verursachen, die nach den vorstehenden Angaben scheinbar unabhängig von der Größe der verabfolgten Substanzmenge und der Zeit ihrer Einwirkung auftreten. Dabei muß jedoch betont werden, daß die Mehrzahl dieser Beobachtungen bei Menschen mit pathologischer Veränderung der Schilddrüse (Hyperthyreose, Morbus Basedowii) gemacht worden sind. Gerade im Hinblick auf diese Tatsache schien es uns angebracht zu sein, zu Vergleichszwecken die Reaktion des gesunden Organismus auf die genannten schwefelhaltigen antithyreoidalen Substanzen kennen zu lernen.

Zu diesem Zweck wurden normalen Ratten täglich verschiedene Mengen von Thiouracil zugeführt und die Wirkungen auf das Blutbild und den Gesamtorganismus mit denen verglichen, die nach Verabfolgung gleich großer Dosen von 4-Methylthiouracil eintreten.

II. Methodik.

Für die Versuche wurden 133 weiße weibliche Ratten im Gewicht von 80—120 g verwendet. Die Tiere waren unter gleichen Temperatur- und Lichtbedingungen untergebracht und erhielten als Futter Küchenabfälle und zusätzlich Hafer.

Die zu untersuchenden Substanzen Thiouracil und 4-Methylthiouracil* wurden den Ratten per os gegeben (Schlundsonde). Die täglichen Gaben betrugen 0,1 g oder 0,5 g je Kilogramm Körpergewicht. Die Mengen waren absichtlich groß gewählt, um etwa auftretende Nebenerscheinungen sicher erfassen zu können. Wegen ihrer Schwerlöslichkeit wurden beide Substanzen in Wasser aufgeschwemmt und die Aufschwemmungen täglich frisch zubereitet. Die Flüssigkeitsmenge war dabei so bemessen, daß die je 100 g Tier zu verabreichenden Gaben jeweils in 1 cm^3 Wasser enthalten waren. Die Dauer der Behandlung betrug 22 Tage. Anschließend wurden die Tiere noch 14—24 Tage beobachtet und ihr Blutbild laufend geprüft.

Zur Untersuchung des Blutes wurden die in der Klinik gebräuchlichen Methoden — Bestimmung des Hämoglobins nach Sahli, Zählung der Erythrozyten und Leukozyten mittels der üblichen Pipetten in der Thoma-Zählkammer — verwendet. Die luftgetrockneten Blutausstriche wurden nach Pappenheim gefärbt und nach dem Hämogramm von Schilling ausgewertet. Das zu untersuchende Blut wurde aus der Schwanzvene der Tiere entnommen und bei 36 Ratten in 3tägigen Abständen fortlaufend geprüft. Bei 77 Ratten erfolgte die Untersuchung des Blutes nur zu Beginn und am Ende der Behandlungszeit. Da die hierbei erhaltenen Befunde lediglich zu Kontrollzwecken dienten, ist auf ihre Wiedergabe in den Tabellen und Abbildungen verzichtet worden. Als Vergleichstiere verwendeten wir 20 unbehandelte Ratten, von denen 10 ebenfalls regelmäßig in 3tägigen Intervallen hämatologisch untersucht wurden. Die Versuche sind in den Monaten April — November 1947 durchgeführt worden.

III. Allgemeinwirkungen.

Nach den Untersuchungen von Bielig, Kopf, Loeser und Meyer[30] nimmt das Körpergewicht von Ratten bei täglicher Verabfolgung von 0,1 g bzw. 0,5 g Thiouracil oder 4-Methylthiouracil in wesentlich geringerem Ausmaß zu als das von gleich schweren Kontrolltieren. Diese Beobachtungen treffen auch für die vorliegenden Versuche zu. Abgesehen von kleinen Schwankungen war auch hier während der ganzen Versuchszeit keine nennenswerte Gewichtszunahme zu erkennen.

Zu Beginn der Behandlung zeigten die Tiere verminderte Freßlust und waren wenig lebhaft. Bei einzelnen Ratten stellten sich zu diesem Zeitpunkt (3.—5. Tag) reversible Lähmungen der hinteren Extremitäten und bei einem Tier auch Hämaturie ein. Auffällig war weiterhin das Auftreten von kirschkern- bis haselnußgroßen Schwellungen, die vorwiegend im Bereiche des Halses (Speicheldrüsen) lokalisiert und mit einer grünlich-gelben, nicht riechenden, griesbreiähnlichen Masse ausgefüllt waren. Diese Erscheinungen bildeten sich sowohl nach Verabfolgung von Thiouracil als auch nach Zufuhr von 4-Methylthiouracil aus. Bestimmend für ihr Auftreten scheint die Größe der verabfolgten Substanzmenge zu sein, denn sie waren nach Zufuhr von 0,5 g Thiouracil oder 0,5 g 4-Methylthiouracil häufiger zu beobachten als bei

* Methylthiouracil „Knoll".

Verabfolgung von 0,1 g der beiden antithyreoidalen Substanzen. Sie waren nach Verabreichung von 0,5 g 4-Methylthiouracil stärker ausgeprägt und häufiger anzutreffen als nach Verabfolgung von 0,5 g Thiouracil. Ein weiterer Unterschied zwischen beiden Substanzen bestand darin, daß von den mit 0,5 g Thiouracil behandelten Tieren

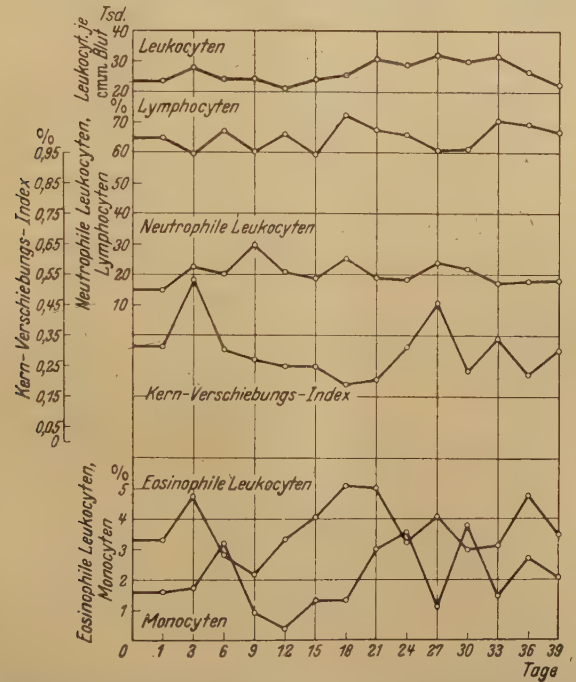


Abb. 1. Differentialblutbild von normalen Ratten. Blutentnahmen in Abständen von je 3 Tagen. Die Punkte der einzelnen Kurven entsprechen den Mittelwerten von 10 Tieren. Abszisse: Zeit in Tagen. Ordinate: Leukozyten in Tausend. Neutrophile und eosinophile Leukozyten, Lymphozyten sowie Monozyten und K.V.I. in Prozent.

42%, von den mit 0,5 g 4-Methylthiouracil behandelten hingegen 58% zugrunde gingen.

Auf die Veränderung der inneren Organe, namentlich der Nieren im Sinne einer Nephrose und die sich hieraus für die Klinik ergebenden Folgerungen wurde bereits an anderer Stelle[31] von uns hingewiesen.

IV. Wirkung auf das Blutbild.

Um den Einfluß wiederholter Blutentnahme auf die Zusammensetzung des Blutes kennen zu lernen, bestimmten wir in einer besonderen Versuchsreihe zunächst das Blutbild der normalen Ratte. Die hierbei erhaltenen Werte sind in Tabelle 1 und Abb. 1 übersichtlich zusammengestellt. Die Zahlen, die an zehn verschiedenen Tieren gewonnen wurden,

Tabelle 1. *Das Verhalten von Hämoglobin, Erythrozyten und Leukozyten normaler Ratten bei fortlaufender Untersuchung des Blutes.*

Tier-Nr.		Tag der Blutentnahme													
		1.	3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	27.	30.	33.	36.	39.
1	Hb.	90	87	85	87	86	87	85	90	88	90	90	90	89	90
	E.	7,27	7,49	7,80	8,07	7,99	7,96	7,89	7,44	6,80	7,13	8,40	8,30	7,67	7,51
	L.	18400	21600	16200	41800	38800	32400	30100	29000	36200	25600	27800	27800	21000	19200
2	Hb.	85	86	86	88	87	90	90	91	93	91	90	89	88	86
	E.	8,85	8,57	7,98	7,70	7,21	8,99	7,19	8,76	8,92	8,91	7,94	9,21	9,97	8,95
	L.	21800	21200	24600	24400	24000	28000	21800	16000	26000	40800	28600	50000	40000	34000
3	Hb.	81	75	72	72	73	75	80	80	72	74	76	80	81	80
	E.	7,02	7,27	8,05	7,39	6,25	6,74	6,47	7,21	6,12	6,48	5,80	6,42	5,08	5,89
	L.	17800	17000	17400	14600	14800	18600	16200	55200	25600	31600	23400	30200	16800	17300
4	Hb.	73	76	76	76	75	77	80	80	79	82	84	86	83	80
	E.	7,27	6,69	7,53	6,98	6,15	6,99	8,44	7,87	8,37	7,35	8,30	8,61	6,60	6,95
	L.	13000	16200	26200	28800	27800	13800	20200	29800	29600	27600	27800	26800	30200	21000
5	Hb.	74	76	75	75	76	72	79	86	79	84	81	80	83	78
	E.	7,30	5,40	5,06	7,62	7,32	5,99	7,28	7,07	7,79	6,30	7,55	5,24	6,22	6,85
	L.	30000	36400	29600	43800	34200	31400	29400	47000	26000	28000	26600	24800	22000	23000
6	Hb.	90	84	80	84	85	83	80	77	75	77	77	75	80	82
	E.	8,19	7,39	6,43	6,55	7,38	6,56	6,05	6,53	7,14	6,02	6,94	7,59	6,19	7,39
	L.	33000	33600	22200	*16800*	*17200*	27800	33000	28000	28000	38800	34600	38800	30600	28000
7	Hb.	95	88	83	85	82	84	81	81	83	86	88	88	84	88
	E.	7,29	7,48	7,17	8,03	8,00	7,65	7,13	7,33	7,97	8,48	8,57	7,75	7,68	7,51
	L.	16400	17800	21800	13800	17300	12200	18300	16800	*25400*	*25400*	*21600*	*29000*	14400	16300
8	Hb.	87	88	88	80	81	82	80	79	78	72	75	84	89	87
	E.	6,87	7,04	7,37	7,83	7,78	6,15	6,13	6,31	7,97	7,58	7,99	8,55	8,96	7,50
	L.	16200	17800	22800	18800	18300	12200	18300	18800	23400	38600	26800	25000	18000	19000
9	Hb.	95	80	80	80	80	81	78	77	73	70	71			
	E.	8,37	7,19	7,96	7,80	6,95	6,05	5,75	6,40	6,03	5,71	5,79	†		
	L.	38000	45600	30800	15800	16000	26000	37800	53000	37000	33400	26800			
10	Hb.	90	82	83	82	84	82	79	77	74	76	70	70	72	76
	E.	7,43	7,53	6,52	7,20	7,05	6,62	6,21	6,05	5,24	5,89	6,26	5,07	5,11	6,15
	L.	24400	32200	24800	31000	28000	25200	25900	25200	34000	36600	40600	34400	53600	30000

Abkürzungen: Hb. = Hämoglobin in %, E. = Erythrozyten in Millionen, L. = Leukozyten. Die in Kursivschrift gesetzten Zahlen sollen auf das Vorkommen von Granula im Protoplasma der Leukozyten hinweisen.

zeigen trotz der Häufigkeit der Blutentnahmen lediglich unvermeidbare individuelle Schwankungen. Im Durchschnitt enthält das Rattenblut

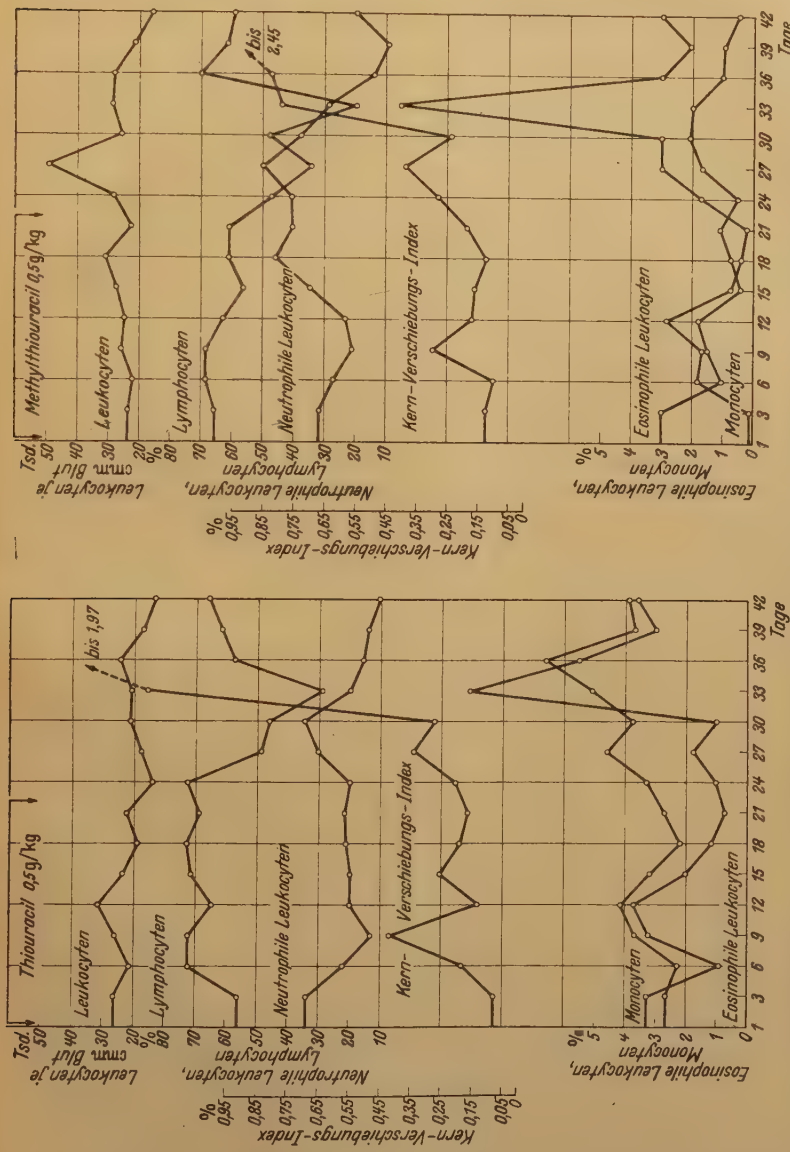


Abb. 2. Differentialblutbild von Ratten nach 22tägiger Einwirkung von täglich 0,5 g Thiouracil bzw. 0,5 g 4-Methylthiouracil je Kilogramm Körpergewicht per os. Blutentnahmen in Abständen von je 3 Tagen. Die Punkte der einzelnen Kurven entsprechen den Mittelwerten von 8 bzw. 10 Tieren. Die Pfeile ↓ ↓ geben die Dauer der Behandlung an. Abszisse: Zeit in Tagen. Ordinate: Leukozyten in Tausend. Neutrophile und eosinophile Leukozyten, Lymphocyten sowie Monozyten und K.V.I. in Prozent.

etwa 80% Hämoglobin. Die Zahl der roten Blutkörperchen beträgt etwa 7 Millionen, die der Leukozyten liegt zwischen 15000 und 20000. Die Auszählung des weißen Differentialblutbildes ergab neben der

bei Ratten normalerweise hohen Lymphozytenzahl von 60—72% 21% neutrophile, 3,6% eosinophile Leukozyten und 1,2% Monozyten. Der ebenfalls bestimmte Kernverschiebungsindex lag bei 0,72%. Bei zwei Ratten waren im Protoplasma der Leukozyten Granula nachzuweisen.

Wie aus Tabelle 2 und Abb. 2 hervorgeht, lassen sich bei der Ratte unter den angegebenen Bedingungen durch Thiouracil und 4-Methylthiouracil ähnliche Veränderungen des Blutbildes nachweisen, wie sie beim Menschen beschrieben worden sind. Gibt man normalen Ratten je Kilogramm Körpergewicht täglich 0,5 g Thiouracil oder 0,5 g 4-Methylthiouracil und beobachtet die Tiere nach Ablauf der 22tägigen Versuchszeit noch einige Wochen weiter, dann finden sich im Vergleich mit der Zusammensetzung des Blutes unbehandelter Tiere Unterschiede, welche bei beiden Substanzen im wesentlichen gleichsinnig sind. Während der Hämoglobingehalt keine nennenswerte Änderung erfährt, ist die Zahl der roten Blutkörperchen verringert. Die Zahl der weißen Blutzellen nimmt ebenfalls ab, wobei zu bemerken ist, daß sich die Leukopenie erst nach und nach im Laufe der Behandlung einstellt und nach Absetzen der antithyreoidalen Substanzen am deutlichsten wird. Eine Agranulozytose wurde unter den angegebenen Bedingungen nicht beobachtet.

Bei der Auszählung des weißen Differentialblutbildes fand sich eine starke Kernverschiebung. Sie gibt sich in dem steilen Anstieg der Kernverschiebungsindexkurve zu erkennen und ist bedingt durch die vermehrte Ausschwemmung von Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten und das gehäufte Vorkommen von jugendlichen, vor allem stabförmigen granulozytären Elementen. Das Verhalten der eosinophilen Leukozyten ist bei beiden antithyreoidalen Substanzen verschieden. Während diese Zellelemente im Blute der mit Thiouracil behandelten Tiere während des Zeitpunktes der stärksten Kernverschiebung eine beträchtliche Vermehrung erfahren, ist ihre Zahl bei den mit 4-Methylthiouracil behandelten Ratten zu dieser Zeit vermindert. Ein weiterer Unterschied zwischen der Wirkung von Thiouracil und 4-Methylthiouracil besteht darin, daß der Verlauf der Kernverschiebungsindexkurve bei Verwendung von Thiouracil in erster Linie durch das Auftreten von Myelozyten, Promyelozyten und sogar Myeloblasten, bei Verwendung von 4-Methylthiouracil hingegen vorwiegend durch die Vermehrung der Jugendlichen und Stabkernigen bestimmt wird. Ob die nachgewiesene Kernverschiebung als Ausdruck einer Reifungshemmung aufzufassen ist oder die Folge einer Schädigung des Knochenmarkes im Sinne einer Lähmung der Blutknochenmarksschranke darstellt, kann nur durch eine Prüfung des Knochenmarkes entschieden werden, die späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben soll.

Hervorzuheben ist endlich noch die Tatsache, daß der gegen Ende der Beobachtungszeit nachgewiesene Höchststand der Kernverschiebungsindexkurve zeitlich mit dem Tiefpunkt der Lymphozyten- und dem Höhepunkt der Monozytenkurve zusammenfällt.

Von besonderem Interesse ist, abgesehen von der beschriebenen Kernverschiebung, die Tatsache, daß bei mehreren Ratten im Protoplasma der Leukozyten während der 22tägigen Behandlungszeit, meist jedoch erst nach Absetzen der antithyreoidalen Substanzen, mehr oder weniger große grobkörnige, mit der PAPPENHEIMschen Färbung braunrot darstellbare Granula, zu erkennen waren, die man im menschlichen Blutbild als „toxisch" bezeichnen würde. Vereinzelt fanden sich bei den mit 0,5 g Thiouracil oder 0,5 g 4-Methylthiouracil behandelten Ratten auch Vakuolenbildung im Protoplasma und Basophilie. Da die Granulierung des Protoplasmas, wenn auch seltener, sowohl bei Verfütterung von 0,1 g Thiouracil oder 0,1 g 4-Methylthiouracil je Kilogramm Körpergewicht, als auch bei zwei unbehandelten Vergleichstieren angetroffen wurde, darf dieser Befund nicht überbewertet werden. Bei dem Versuch einer Erklärung muß daran gedacht werden, daß die Granulierung möglicherweise keine direkte Folge der einwirkenden antithyreoidalen Substanzen ist, sondern auch durch infektiöse Erkrankungen verursacht werden kann, da bekanntlich die weiße Inzuchtratte gegenüber Infektionen besonders empfindlich ist. Die Tatsache, daß die beobachtete Granulierung gerade bei den mit 0,5 g Thiouracil bzw. 0,5 g 4-Methylthiouracil behandelten Ratten verstärkt und bei vielen Tieren gefunden wird, legt daher die Vermutung nahe, daß diese Substanzen in Abhängigkeit von der Größe der Dosis die Reaktionslage des Körpers im Sinne einer erhöhten Anfälligkeit ändern. Die Folge davon ist, daß interkurrente Erkrankungen sich ungehemmter einschleichen und auswirken können. Wird dabei die Tätigkeit der Leukozyten sehr stark beansprucht, so kann dieses zu morphologischen Veränderungen der Struktur, beispielsweise zum Auftreten von Granula im Protoplasma, führen.

Im Gegensatz zu den Tieren, die täglich 0,5 g Thiouracil bzw. 0,5 g 4-Methylthiouracil erhalten hatten, zeigte das Blutbild der mit 0,1 g Thiouracil oder 0,1 g 4-Methylthiouracil behandelten Tiere im wesentlichen nur geringe Schwankungen der Leukozytenzahlen. Es muß daher angenommen werden, daß das Ausmaß der beobachteten Veränderungen des Blutbildes neben anderen Faktoren in erster Linie durch die *Größe* der verabfolgten Substanzmenge bestimmt wird. Wenn dieser Zusammenhang bei Untersuchungen anderer nicht immer sinnfällig wurde, so mag das vielleicht seine Erklärung in der Kürze der Beobachtungszeit oder der zu selten ausgeführten Blutuntersuchungen finden. Man darf nämlich nicht übersehen, daß sich die Leukopenie

Tabelle 2. *Das Verhalten von Hämoglobin, Erythrozyten und Leukozyten bei normalen Ratten nach 22tägiger Einwirkung von täglich 0,5 g Thiouracil bzw. 0,5 g 4-Methylthiouracil per os.*

Tier-Nr.		Hämoglobin, Erythrozyten und Leukozyten													
		während der Behandlung							nach der Behandlung						
		Tag der Blutuntersuchung							Tag der weitergeführten Blutuntersuchung						
		3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	27.	30.	33.	36.	39.	42.
		1. Thiouracil.													
13	Hb.	87	88	86	85	85	86	85	86	83	85	84	86	85	87
	E.	6,76	7,13	6,75	6,73	7,59	6,78	6,74	7,35	6,76	5,88	6,86	7,37	7,11	7,45
	L.	27400	20600	29000	28800	31100	22800	40400	25200	28200	30600	32600	40600	16300	19800
16	Hb.	74	75	72	71	71	72	75	70	75	74	74	76	75	77
	E.	8,02	7,27	6,98	7,42	6,58	6,74	6,56	6,38	6,40	6,79	6,57	6,97	7,08	6,63
	L.	35900	22000	23800	47600	22300	20400	24000	14800	25200	25600	22600	27200	11400	10200
17	Hb.	78	74	77	76	78	77	74	72	73	77	75	77	79	76
	E.	7,96	8,50	7,42	8,37	8,05	7,68	6,03	6,84	7,81	7,49	6,95	8,16	8,17	6,99
	L.	24000	25600	28400	28000	29800	15200	14200	13000	15000	13200	*18600*	*13000*	*11000*	16600
21	Hb.	80	79	78	79	79	78	78	77	76	78	77	74	78	77
	E.	8,31	7,29	8,52	7,56	7,34	6,58	6,01	5,98	6,01	6,08	7,88	7,97	6,86	6,13
	L.	29000	28200	29200	46800	29800	27400	22000	17400	16400	24800	19000	38000	*28600*	*14400*
22	Hb.	69	67	69	73	72	72	72	74	72	75	76	76	78	75
	E.	7,09	6,89	7,91	7,02	6,85	6,79	6,25	6,01	5,95	7,62	7,51	8,73	8,36	7,45
	L.	17000	13100	12800	13400	11200	12800	10800	9600	*6900*	*9000*	*12100*	*12000*	*14800*	9800
23	Hb.	89	87	89	85	86	85	84	85	83	84	83	83	89	84
	E.	7,84	7,55	7,86	8,07	7,05	6,98	7,03	7,01	6,63	5,60	7,99	7,62	7,45	8,04
	L.	26800	19200	23700	37200	24800	23200	24800	13200	28200	23400	19800	18000	14600	11400
20	Hb.	76	76	76	76	77	77	74	73	76					
	E.	7,55	7,05	7,02	7,12	6,92	6,07	5,90	6.05	6,03	†				
	L.	24300	20600	28000	25000	21200	13600	21000	15600	16200					
14	Hb.	73	71	70	75	73	74	74	74	74					
	E.	7,57	7,36	6,97	5,93	6,01	5,83	5,69	5,83	5,72	†				
	L.	29000	23100	27200	22800	17400	12400	18800	10200	*7200*					

2. 4-Methylthiouracil.

42	Hb.	77	77	75	76	77	76	77	77	74	76	77	78	75	78
	E.	8,31	8,18	7,88	6,98	6,38	7,34	6,94	6,60	6,35	8,48	8,07	7,19	7,35	6,29
	L.	27200	24700	19100	24000	30800	45200	29800	32800	32200	26800	34400	30400	18200	10800
44	Hb.	81	80	78	78	79	78	78	78	71	75	76	78	80	80
	E.	7,64	6,91	6,02	6,30	6,27	5,91	6,17	6,83	5,60	5,21	5,73	6,88	6,84	5,99
	L.	31800	26250	41200	29000	33800	72800	30200	55300	65400	24400	*22800*	*26400*	*25200*	*20400*
48	Hb.	68	68	67	65	66	65	68	66						
	E.	7,62	7,20	6,89	7,18	6,81	7,17	6,91	6,53	†					
	L.	26400	17800	22800	16600	21000	14800	17100	6200						
38	Hb.	85	85	83	83	83	83	83	81	85					
	E.	7,98	7,26	6,83	6,98	6,94	6,73	6,23	8,55	9,43	†				
	L.	19250	24690	26900	31800	27600	32600	20600	20200	*9200*					
39	Hb.	70	70	71	71	71	69	64							
	E.	7,57	7,03	7,58	5,60	7,32	5,91	4,96	†						
	L.	25140	20600	28400	26800	27200	18400	*13600*							
41	Hb.	68	68	70	69	70	70	69							
	E.	7,99	8,28	8,31	6,72	6,21	6,15	7,12	†						
	L.	26800	23200	27600	18000	19400	18900	21800							
40	Hb.	73	72	72	72	71	73								
	E.	9,80	8,55	6,39	7,17	6,67	6,58	†							
	L.	19800	16800	16600	27400	22000	*17200*								
43	Hb.	79	78	76	75	76									
	E.	7,10	7,10	6,76	5,98	6,38	†								
	L.	21400	24000	23000	23200	20600									

Abkürzungen: Hb. = Hämoglobin in %, E. = Erythrozyten in Millionen, L. = Leukozyten. Die in Kursivschrift gesetzten Zahlen sollen auf das Vorkommen von Granula im Protoplasma der Leukozyten hinweisen.

Tabelle 3. *Das Verhalten von Hämoglobin, Erythrozyten und Leukozyten bei normalen Ratten nach 22tägiger Einwirkung von täglich 0,1 g Thiouracil bzw. 0,1 g 4-Methylthiouracil per os.*

Tier-Nr.		Hämoglobin, Erythrozyten und Leukozyten													
		während der Behandlung								nach der Behandlung					
		Tag der Blutuntersuchung								Tag der weitergeführten Blutuntersuchung					
		1.	3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	27.	30.	33.	36.	39.
		1. Thiouracil.													
291	Hb.	86	80	80	85	84	86	90	91	86	83	86	80	82	80
	E.	9,04	7,95	6,68	7,25	7,90	6,58	7,89	8,55	8,67	7,95	7,49	7,96	7,76	6,76
	L.	12100	31000	48200	36400	17800	12400	23600	17200	10200	15600	19600	19200	14000	22600
293	Hb.	98	80	80	80	88	85	81	90	90	90	95	95	95	93
	E.	8,58	7,58	7,73	6,72	7,02	7,76	7,65	8,33	7,63	7,97	9,26	8,89	7,42	7,28
	L.	13800	11600	23400	37200	19800	19600	30200	20400	15000	18600	22600	30200	36600	30100
294	Hb.	83	83	82	81	79	80	86	86	82	78	82	78	80	84
	E.	6,87	6,50	6,87	5,84	5,91	7,13	7,97	7,02	7,83	7,33	6,62	6,14	7,02	7,38
	L.	25600	7000	30000	76800	74000	51200	16200	36200	47200	47000	19200	20800	16000	19000
295	Hb.	88	74	82	78	81	80	79	82	81	78	84	86	84	83
	E.	7,79	6,08	6,24	5,99	6,11	7,30	6,27	7,23	7,20	6,26	7,06	6,98	6,06	7,28
	L.	31100	18800	44000	30400	34000	17800	21800	25600	26200	30200	27400	27600	37600	16600
296	Hb.	88	71	80	81	78	78	80	80	83	77	80	80	80	80
	E.	8,45	5,90	7,46	6,56	7,11	6,99	6,35	7,61	7,08	7,01	7,37	6,87	7,10	6,59
	L.	18200	27000	27400	34600	22400	27800	26200	25200	19200	28000	22600	18600	30600	15600
298	Hb.	82	83	80	78	77	76	77	75	79	80	80	80	82	80
	E.	7,99	7,09	6,90	6,53	7,30	7,31	6,36	6,74	6,74	7,05	7,37	7,66	7,95	7,17
	L.	31600	11600	21200	15000	20200	26600	25600	29200	26000	*16600*	*21400*	*30400*	*25800*	*14400*
292	Hb.	82	81	82	79	85	83	80	78	79	80	85	82	83	
	E.	8,29	7,16	8,80	7,56	8,06	6,04	6,48	6,48	6,63	6,82	7,21	7,41	7,74	†
	L.	13000	8000	20200	60600	15200	24800	40800	19000	16000	*27800*	*26200*	*14800*	*9400*	
297	Hb.	80	80	80	76										
	E.	7,29	6,66	6,31	5,94	†									
	L.	21000	28600	16400	31200										
290	Hb.	94	96	81											
	E.	8,56	8,35	7,05	†										
	L.	13600	12000	11400											
299	Hb.	84	86	78											
	E.	7,54	8,01	6,79	†										
	L.	40160	14600	7200											

2. 4-Methylthiouracil.

73	Hb.	95	89	85	84	85	80	78	78	76	79	80	80	83
	E.	7,16	7,22	7,30	7,22	7,01	6,10	7,38	7,73	7,30	6,32	7,53	7,65	7,93
	L.	26400	37000	25000	24600	39200	38800	18800	23200	24200	29400	*24000*	*35200*	*40010*
74	Hb.	84	83	85	85	83	81	82	82	83	83	84	86	85
	E.	6,89	7,11	7,75	6,87	6,90	7,61	6,81	6,42	6,81	7,36	8,14	7,47	7,36
	L.	17400	14800	19200	16400	19400	36600	24200	21400	12000	24600	20600	32600	27200
76	Hb.	94	91	86	83	82	85	82	82	86	87	88	90	95
	E.	8,09	7,45	8,03	7,20	7,24	7,52	6,62	6,99	7,02	7,86	8,02	7,75	8,02
	L.	18800	29800	30600	31800	17800	24400	18400	29000	28400	66000	38200	23400	27400
81	Hb.	101	101	100	100	99	96	95	82	84	85	86	85	86
	E.	8,40	9,90	8,90	8,87	8,07	8,17	7,32	6,23	6,25	6,78	7,99	8,52	7,97
	L.	13400	12200	20200	27800	22200	12600	38200	76800	53000	26400	25600	27000	25600
75	Hb.	85	85	85	86	85	82	82	82	82				
	E.	7,82	7,36	7,30	6,67	7,13	7,32	6,95	6,71	6,04	†			
	L.	18400	25800	26200	24200	32000	15200	27200	32800	19200				
77	Hb.	91	91	91	89	90	81	83	84	85				
	E.	8,02	7,11	7,77	6,94	5,79	5,56	5,17	5,41	5,34	†			
	L.	22000	18800	20400	33800	25600	15600	25000	18000	25800				
78	Hb.	98	85	91	86	86	80	82	89	81				
	E.	8,08	7,22	6,59	7,62	6,25	6,11	6,19	6,29	6,52	†			
	L.	20200	20400	19200	27000	25800	20200	27800	19200	18000				
79	Hb.	93	89	92	92	92	89	88	83	88				
	E.	7,37	6,81	6,55	7,02	8,31	7,98	6,75	6,72	6,04	†			
	L.	19600	22600	25000	23000	32400	30200	24000	21800	8650				
80	Hb.	87	88	86	86	90	86	82	81	83				
	E.	7,95	7,64	7,74	7,74	9,11	8,40	7,99	7,51	7,99	†			
	L.	13600	28000	24000	19000	26000	16800	13800	20400	20200				
72	Hb.	81	89	90	91	85	80							
	E.	7,02	7,84	8,01	8,61	8,00	6,83	†						
	L.	26200	19400	23000	14600	16200	16200							

Die Tiere 75, 77, 78 wurden am 2. Tage, die Tiere 79 und 80 am 3. Tage nach Absetzen der Behandlung vorzeitig getötet.

Abkürzungen: Hb. = Hämoglobin in %, E. = Erythrozyten in Millionen, L. = Leukozyten. Die in Kursivschrift gesetzten Zahlen sollen auf das Vorkommen von Granula in dem Protoplasma der Leukozyten hinweisen.

oft erst spät im Laufe der Behandlung oder gar nach ihrer Unterbrechung einstellt und die Behandlung überdauert.

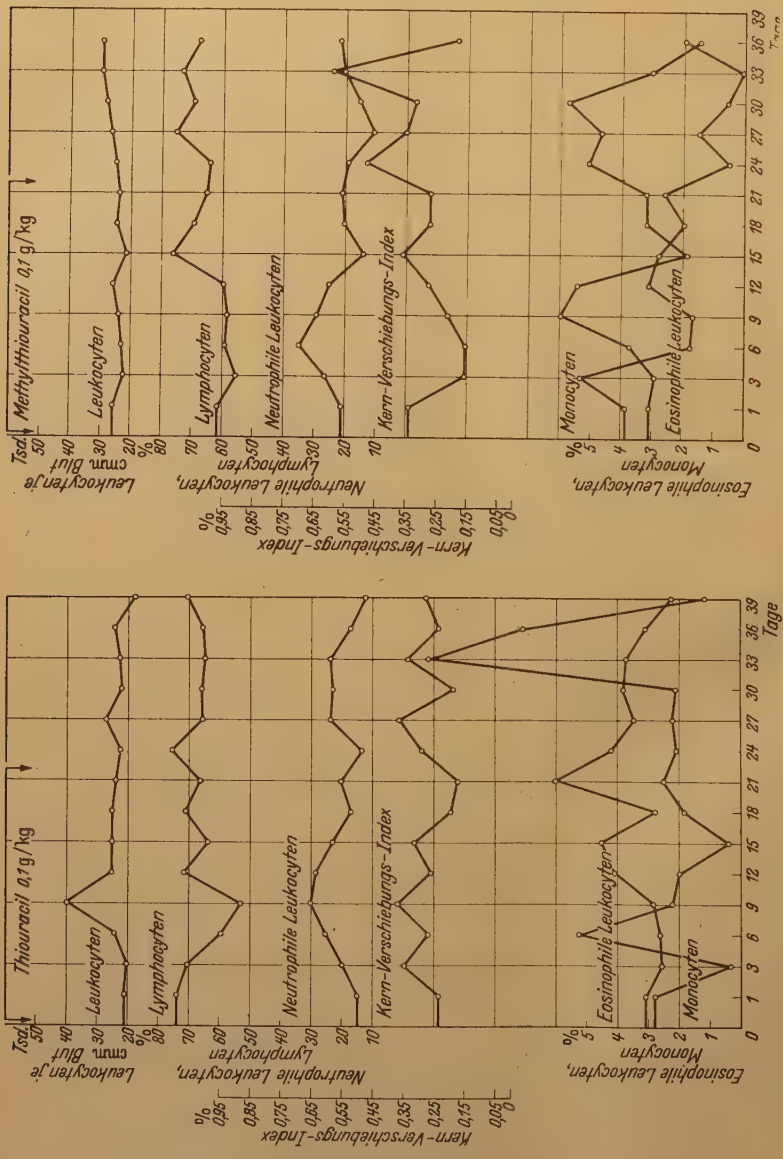


Abb. 3. Differentialblutbild von Ratten nach 22tägiger Einwirkung von täglich 0,1 g Thiouracil bzw. 0,1 g 4-Methylthiouracil je Kilogramm Körpergewicht per os. Blutentnahmen in Abständen von je 3 Tagen. Die Punkte der einzelnen Kurven entsprechen den Mittelwerten von 8 bzw. 10 Tieren. Die Pfeile ↓ ↓ geben die Dauer der Behandlung an. Abszisse: Zeit in Tagen. Ordinate: Leukozyten in Tausend, Neutrophile und eosinophile Leukozyten, Lymphozyten sowie Monozyten und K.V.I. in Prozent.

Faßt man die in der vorliegenden Arbeit erhaltenen Ergebnisse zusammen, dann zeigt sich, daß das Blutbild normaler Ratten durch Thiouracil und 4-Methylthiouracil in ähnlicher Weise beeinflußt wird

wie das Blutbild von Menschen mit pathologischen Veränderungen der Schilddrüse. Die Veränderungen des Blutbildes betreffen in erster Linie die weißen Blutkörperchen und sind gekennzeichnet durch die Abnahme der Zahl der Leukozyten und das Auftreten unreifer myeloischer Zellelemente. Sie sind abhängig von der Größe der verabfolgten Mengen der einwirkenden antithyreoidalen Substanzen, denn Änderungen des Blutbildes lassen sich nach täglicher Verabfolgung von 0,5 g Thiouracil oder 0,5 g 4-Methylthiouracil häufiger und in stärkerem Maße nachweisen als nach Zufuhr von 0,1 g Thiouracil oder 0,1 g 4-Methylthiouracil.

Die Frage, ob die toxischen Eigenschaften des Thiouracilmoleküls durch Einführung einer Methylgruppe in 4-Stellung herabgesetzt wird, ist nicht eindeutig zu beantworten. Einerseits zeigen die beiden Substanzen keinen wesentlichen Unterschied in der Beeinflussung des Blutbildes, andererseits aber ruft 4-Methylthiouracil im Vergleich zu Thiouracil in verstärktem Maße toxische Nebenerscheinungen hervor und bedingt eine größere Sterblichkeit der Tiere. Somit wäre im Hinblick auf die Allgemeinwirkungen das 4-Methylthiouracil die stärker toxisch wirkende der beiden Substanzen, eine Folgerung, die anscheinend im Gegensatz zu den bisherigen klinischen Berichten steht. Es muß aber bei diesem Widerspruch daran gedacht werden, daß bei der Anwendung von 4-Methylthiouracil in der Klinik möglicherweise gar nicht dessen toxischer Wirkungsbereich erreicht wird, da man im Vergleich zu Thiouracil schon mit viel geringeren Mengen 4-Methylthiouracil den gewünschten therapeutischen Effekt erzielt. Mit dieser Feststellung soll lediglich das Verhältnis der absoluten Toxizitäten ohne Berücksichtigung des Verhältnisses der klinisch-therapeutischen Dosen gekennzeichnet werden.

Zusammenfassung.

In vergleichenden Untersuchungen wird der Einfluß von Thiouracil und 4-Methylthiouracil auf das allgemeine Verhalten und das Blutbild normaler Ratten untersucht. Dabei ergab sich:

1. Bei täglicher oraler Verabreichung von 0,1 g oder 0,5 g Thiouracil bzw. 4-Methylthiouracil je Kilogramm Körpergewicht nimmt das Gewicht der Tiere während der 22tägigen Behandlungszeit in wesentlich geringerem Umfange zu als das von unbehandelten Vergleichsratten. Die Widerstandskraft des Organismus gegenüber interkurrenten Erkrankungen scheint in Abhängigkeit von der Größe der Dosis durch beide antithyreoidale Substanzen herabgesetzt zu werden.

2. Das Blutbild zeigt eine Abnahme der Zahl der Leukozyten und Auftreten unreifer myeloischer Zellformen. Die Kernverschiebung setzt erst spät während oder nach der Behandlung ein und kann diese überdauern. Sie wurde nur nach Verabfolgung von 0,5 g Thiouracil oder

0,5 g 4-Methylthiouracil angetroffen, während Leukopenien gelegentlich auch nach Zufuhr von 0,1 g Thiouracil oder 0,1 g 4-Methylthiouracil beobachtet werden konnten.

3. Es wird darauf hingewiesen, daß sich Thiouracil und 4-Methylthiouracil im Hinblick auf die Blutveränderungen nicht wesentlich unterscheiden, die übrigen Nebenwirkungen aber bei Verabreichung von 0,5 g 4-Methylthiouracil stärker und häufiger anzutreffen sind als nach 0,5 g Thiouracil.

Literatur.

[1] Hadorn, W. u. K. Beer: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 1. — Spühler, O.: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 275. — Wagner-Jauregg, Th.: Med. Klin. **1946**, 434. — Huf, E.: Dtsch. med. Wschr. **1946**, 22. — Ritchie, F. R. and B. L. Geddes: Surg. etc. **79**, 349 (1944). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Kennie, A. T.: Glasgow med. J. **143**, 141 (1945). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1947**, 138. — [2] Bartels, E. C.: Syposium of Gynecologic and Thyroid Surgery, S. 645—650. Lahey Clinic Number. Philadelphia and London: W. B. Saunders Company 1945. Ref. Pharmazie **1946**, 189. — Cookson, H.: Lancet **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 36. — Hadorn, W. u. K. Beer: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 1. — McArthur, Janet W., Rulon W. Rawson and J. H. Means: Ann. int. Med. (Am.) **23**, 915 (1945). — Lahey, F. H., E. C. Bartels, Sh. Warren: Surg. etc. **81**, 425 (1945). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1947**, 137. — Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — Moore, F. D., Donald N. Sweeny, Jr., Oliver Cope, Rulon W. Rawson and J. H. Means: Ann. Surg. **120**, 152 (1944). — Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Siehe Morgans, M. E.: Lancet **1947**, 521. — van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, **343** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — [3] Bartels, E. C.: Syposium of Gynecologic and Thyroid Surgery, S. 645—650. Lahey Clinic Number. Philadelphia and London: W. B. Saunders Company 1945. Ref. Pharmazie **1946**, 189. — Cookson, H.: Lancet **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 36. — McArthur, Janet W., Rulon W. Rawson and J. H. Means: Ann. int. Med. (Am.) **23**, 915 (1945). — Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Siehe Morgans, M. E.: Lancet **1947**, 521. — van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, **343** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — [4] Bartels, E. C.: Syposium of Gynecologic and Thyroid Surgery, S. 645—650. Lahey Clinic Number. Philadelphia and London: W. B. Saunders Company 1945. Ref. Pharmazie **1946**, 189. — Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Nussey, A. M.: Brit. med. J. **1946**, No 4449, 564. Ref. Klin. Wschr. **1947**, 606. — van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, **343** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — [5] Atkin: Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 37. — McArthur, Janet W., Rulon W. Rawson and J. H. Means: Ann. int. Med. (Am.) **23**, 915 (1945). — Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — [6] Cookson, H.: Lancet **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr.

1946, 36. — Hadorn, W. und K. Beer: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 1. — Lahey, F. H., E. C. Bartels and Sh. Warren: Surg. etc. **81**, 425 (1945). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1947**, 137. — Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, 315 (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Siehe Morgans, M. E.: Lancet **1947**, 521. — Nussey, A. M.: Brit. med. J. **1946**, No 4449, 564. Ref. Klin. Wschr. **1947**, 606. — van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, **343** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — [7] Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Moore, F. D., Donald N. Sweeny, Jr., Oliver Cope, Rulon W. Rawson and J. H. Means: Ann. Surg. **120**, 167 (1944). — [8] Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, **343** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — [9] Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — [10] Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — [11] Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — Siehe Morgans, M. E.: Lancet **1947**, 521. — [12] Siehe van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, **343** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — [13] Cookson, H.: Lancet **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 36. — Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — McArthur, Janet W., Rulon W. Rawson and J. H. Means: Ann. int. Med. (Am.) **23**, 915 (1945). — Nussey, A. M.: Brit. med. J. **1946**, No 4449, 564. Ref. Klin. Wschr. **1947**, 606. — [14] Cookson, H.: Lancet **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 36. — Hadorn, W. u. K. Beer: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 1. — Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — McArthur, W. Janet, Rulon W. Rawson and J. H. Means: Ann. int. Med. (Am.) **23**, 915 (1945). — Siehe Morgans, M. E.: Lancet **1947**, 521. — Spühler, O.: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 275. — [15] Linnell, J. E., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — Spühler, O.: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 275. — [16] Hoet, J. P. and J. A. Lederer: Ann. Endocrin. **1946**, 4. Ref. Schweiz. med. Wschr. **1947**, 440. — [17] Bartels, E. C.: Syposium of Gynecologic and Thyroid Surgery. S. 645—650. Lahey Clinic Number. Philadelphia and London: W. B. Saunders Company 1945. Ref. Pharmazie **1946**, 189. — Cookson, H.: Lancet **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 36. — Fishberg, E .H. and J. Vorzimer: J. amer. med. Assoc. **128**, 915 (1945). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — Gessler, C. J.: Blood **1**, 407 (1946). Ref. Schweiz. med. Wschr. **1947**, 297. — Hadorn, W. u. K. Beer: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 1. — Lahey, Fr. H., E. C. Bartels, Sh. Warren: Surg. etc. **81**, 425 (1945). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1947**, 137. — Siehe Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. Moore, F. D., Donald N. Sweeny, Jr., Oliver Cope, Rulon W. Rawson and J. H. Means: Ann. Surg. **120**, 152 (1944). — Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, **315** (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Siehe Morgans, M. E.: Lancet **1947**, 521. — Nussey, A. M.: Brit. med. J. **1946**, No 4449, 564. Ref. Klin. Wschr. **1947**, 606. — Wilson, A.: Lancet **1946**, 640. Ref. Pharmazie **1946**, 190. — van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines,

H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, 343 (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — [18] Siehe Cookson, H.: Lancet **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 36. — Duncan and Linsell: Brit. med. J. **1944**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 37. — Ferber, J., D. M. Spainand and R. T. Catheart: J. amer. med. Assoc. **127**, 646 (1945). Ref. Klin. Wschr. **1946**, 191. — Fishberg, E. H. and J. Vorzimer: J. amer. med. Assoc. **128**, 915 (1945). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — Kahn, J. and R. P. Stock: J. amer. med. Assoc. **126**, 358 (1944). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 116. — Siehe Linnell, J. W., G. Keynes and J. E. Piercy: Brit. med. J. **1946**, 449. Ref. Ärztl. Wschr. **1947**, 444. — Siehe Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, 315 (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — Nussey, A. M.: Brit. med. J. **1946**, No 4449, 564. Ref. Klin. Wschr. **1947**, 606. — Siehe Seligman, B.: J. amer. med. Assoc. **129**, 1123 (1945). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — Williams, R. H. and H. M. Clute: J. amer. med. Assoc. **128**, 65 (1945). Ref. Klin. Wschr. **1947**, 59. — van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, 343 (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — Wosika, P. H. and L. Braun: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 119. — [19] Astwood, E. B.: J. amer. med. Assoc. **122**, 78 (1943). — [20] Moore, F. D.: J. amer. med. Assoc. **130**, 315 (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 118. — [21] Wosika, P. H. and L. Braun: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 119. — [22] Gessler, C. J.: Blood **1**, 407 (1946). Ref. Schweiz. med. Wschr. **1947**, 297. — [23] van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, 343 (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. — [24] van Winkle, W., jr., St. M. Hardy, G. R. Hazel, Don Carlos Hines, H. S. Newcomer, E. A. Sharb and W. N. Sisk: J. amer. med. Assoc. **130**, 343 (1946). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 117. [25] Lahey, F. H., E. C. Bartels and Sh. Warren: Surg. etc. 81, 425 (1945). Ref. Dtsch. med. Wschr. **1947**, 137. — [26] Hadorn, W. u. K. Beer: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 1. — [27] Cookson, H.: Lancet **1945**. Ref. Dtsch. med. Wschr. **1946**, 36. — [28] Spühler, O.: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 275. — [29] Hagen, J. und A. Schürmeyer: Med. Klin. **1947**, 847. — [30] Bielig, H. J., R. Kopf, A. Loeser u. G. Meyer: Unveröffentlichte Versuche. — [31] Fischer, L., R. Kopf, A. Loeser u. G. Meyer: Klin. Wschr. **1948**, 216.

Aus dem Pharmakologischen Institut und dem Laboratorium der Medizinischen Klinik Kiel.

Darstellung und Eigenschaften von Verdoglobinen.

III. Mitteilung*.

Über die prosthetische Gruppe des Verdoglobins$_S$ (Sulfhämoglobins).

Von

Manfred Kiese.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Februar 1948.)

Unter den Verdoglobinen hat das Verdoglobin$_S$ (Sulfhämoglobin), das grüne Derivat des Hämoglobins, das bei der Einwirkung von Schwefelwasserstoff und Sauerstoff auf Hämoglobin entsteht[1], ein besonderes Interesse gefunden. Es ist nicht nur das am längsten bekannte Verdoglobin, sondern auch das, das dem am häufigsten in vivo beobachteten Verdoglobin am ähnlichsten ist. Eine vollständige Umwandlung von Hämoglobin in Verdoglobin$_S$ ist bisher noch nicht gelungen, ebensowenig eine Trennung von Hämoglobin und Verdoglobin aus dem Gemisch, das bei der Einwirkung von Sauerstoff und Schwefelwasserstoff auf Hämoglobin erhalten wird. Seit der Entdeckung des Verdoglobin$_S$ wurde immer wieder angenommen, daß es sich um eine schwefelhaltige Verbindung handele, d. h. über den Schwefel im Globin hinaus noch solcher in der grünen prosthetischen Gruppe vorhanden wäre.

Haurowitz[2, 3], Michel[4] und Nijveld[5] haben in Verdoglobin$_S$-Präparaten einen gegenüber dem Hämoglobin vermehrten Gehalt an Schwefel gefunden. Von andern Autoren (Barkan u. Schales[6], Jung[7], Heubner[8]) wurde der vermehrte Schwefelgehalt von Verdoglobin$_S$-Präparaten nicht als ein zuverlässiger Nachweis von Schwefel in der prosthetischen Gruppe des Verdoglobin$_S$ betrachtet, da der bei der Umsetzung von Hämoglobin mit Schwefelwasserstoff und Sauerstoff anfallende elementare (kolloide) Schwefel nur äußerst schwierig aus den Verdoglobin$_S$-Präparaten zu entfernen ist. Vielmehr hielten diese Autoren die Ähnlichkeit der Extinktion des Verdoglobin$_S$ und seiner Kohlenoxydverbindung im roten Spektralbereich mit der des Verdoglobin$_A$, bzw. Verdoglobin$_{CN}$ als hinreichenden Beweis für die Annahme einer Oxydation des Häms

* II. Mitt. Arch. exper. Path. (D.) **204**, 439 (1946).

[1] Hoppe-Seyler, F.: Zbl. med. Wiss. **1**, 433 (1863). — [2] Haurowitz, F.: Z. physiol. Chem. **151**, 130 (1926). — [3] Haurowitz, F.: J. biol. Chem. **137**, 771 (1941). — [4] Michel, H. O.: J. biol. Chem. (Am.) **126**, 323 (1938). — [5] Nijveld, H. A. W.: Rec. Trav. chim. Pays-Bas **62**, 293 (1943). — [6] Barkan, G. u. O. Schales: Z. physiol. Chem. **254**, 241 (1938). — [7] Jung, F.: Arch. exper. Path. (D.) **194**, 16 (1939). — [8] Heubner, W.: Klin. Wschr. **1940**, 265.

an einem Brückenmethin. Gestützt wurde diese Auffassung durch LEMBERGS Mitteilung[9], daß er aus dem Verdoglobins Biliviolin erhalten hätte. Ausführlichere Darstellungen der bisher bekannten und vermuteten Eigenschaften des Verdoglobins haben in jüngerer Zeit NIJVELD[5] und STIER[10] gegeben.

Weitere Untersuchungen über Verdoglobine (KIESE[11,12,13,14]) haben dann gezeigt, daß die grüne Farbe der Verdoglobine nicht eine bestimmte Struktur der prosthetischen Gruppe der Verdoglobine voraussetzt.

Beim Verdoglobin$_{NO_2}$ und Verdoglobin$_S$ kann wohl eine Oxydation am Brückenkohlenstoff zum Keton als sehr unwahrscheinlich bezeichnet werden, da weder diese Verdoglobine selbst in Eisessig noch ihre prosthetischen Gruppen in Methanol-Chlorwasserstoff in Gallenfarbstoff zerfallen.

LEMBERGS Beobachtung, daß Verdoglobin$_S$ in Eisessig in Biliviolin übergeht, konnten wir nicht sicher bestätigen. Wir konnten nach Behandlung des Verdoglobin$_S$ mit Eisessig und Überführen in Äther aus diesem mit Salzsäure nur kleinste Mengen eines rotvioletten Farbstoffs extrahieren, der der Lösung eine eben erkenntliche Farbe verlieh, aber nicht näher charakterisiert werden konnte. Sollte dieser Farbstoff Biliviolin sein, so dürfte er in Anbetracht seiner geringen Menge kaum als Beweis dafür gelten, daß die Hauptmenge des Verdoglobin$_S$ eine Oxydation am Brückenmethin erfahren hat, sondern allenfalls dafür, daß das Verdoglobin$_S$ keine einheitliche Substanz ist, denn die Hauptmenge des Verdoglobin$_S$ geht in Eisessig nicht in Gallenfarbstoff über.

Daß die Umsetzung von Hämoglobin mit Sauerstoff und Schwefelwasserstoff — ganz abgesehen davon, daß ein Teil des Hämoglobins durch Hämiglobinbildung der Reaktion entgeht — nicht zu einem ganz einheitlichen Produkt führt, scheint auch daraus hervorzugehen, daß die Reduktion des Verdochromogen$_S$ zu einem Hämochromogen[13] nur einen kleinen Teil des Verdoglobin$_S$ betrifft. Ferner könnte auch die Tatsache, daß die Behandlung von Verdoglobin$_S$ mit Methanol-Chlorwasserstoff einerseits zu einem braunen Farbstoff und andererseits zu einem Porphyrinester führt, so verstanden werden. Doch könnten freilich die beiden Stoffe auch aus einem einheitlichen Verdoglobin$_S$ entstehen.

Für die Klärung der Konstitution der prosthetischen Gruppe des Verdoglobin$_S$, insbesondere die Entscheidung der Frage, ob sie Schwefel enthält oder nicht, mußte abermals eine Abtrennung und Reinigung der prosthetischen Gruppe versucht werden, wenn auch frühere Untersuchungen anderer Autoren nicht sehr erfolgversprechend erschienen.

---

[9] LEMBERG, R.: Austral. chem. Inst. J. Proc. **6**, 170 (1939). Zit. nach Chem. Zbl. **1939 II**, 2333. — [10] STIER, E.: Z. inn. Med. **2**, 257 (1947). — [11] KIESE, M. u. H. KAESKE: Biochem. Z. **312**, 121 (1942). — [12] KIESE, M. u. L. SEIPELT: Arch. exper. Path. (D.) **200**, 648 (1943). — [13] KIESE, M.: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 385 (1947). — [14] KIESE, M.: Arch. exper. Path. (D.) **204**, 439 (1947).

Für die Darstellung von Verdoglobin$_S$ wählten wir wie in früheren Untersuchungen[13] die Einwirkung von hohem Schwefelwasserstoffdruck (750 mm Hg) und geringem Sauerstoffdruck (15 mm Hg) über viele Tage.

Besondere Schwierigkeiten bot die Abtrennung der prosthetischen Gruppe des Verdoglobin$_S$ in unverändertem Zustande. Obwohl die prosthetische Gruppe nicht in Gallenfarbstoff zerfällt, ist sie doch nicht sehr beständig und geht unter der Einwirkung von stärkeren Säuren und Alkalien in eine braune Verbindung über, die bisher noch nicht wieder in die ursprüngliche Verbindung zurückverwandelt werden konnte. Andererseits haftet das Verd$_S$ fester am Protein als Protohäm, so daß die Spaltung der Verdoglobin-Proteinbindung unter Erhaltung des Verd$_S$ schwierig ist.

Haurowitz[3] trennte durch Einwirkung von Pepsin-Salzsäure auf ein Gemisch von Verdoglobin$_S$ und Hämoglobin eine braune Verbindung ab, die etwa 3% Eisen enthielt und die er als Sulfhäminproteose bezeichnete. Aus dem Spektrum dieser Verbindung darf man schließen, daß nur noch ein geringer Anteil der grünen Verbindung in der Sulfhäminproteose vorhanden war. Vornehmlich braune Verbindungen erhielten wir auch beim Versuch das Verdoglobin$_S$ entsprechend der Häm-Darstellung von Mörner[15] abzutrennen.

Daß das intakte Verd$_S$ jedoch von grüner Farbe ist, war schon nach der Bildung grüner Chromogene beim Zusatz von Pyridin oder Hydrazinhydrat zur Lösung des Verdoglobins zu schließen und wurde durch die Reinigung des abgetrennten Verd$_S$ bestätigt. Wir haben darum zur Abtrennung des Verd$_S$ solche Verfahren gewählt, bei denen neben Protohäm — aus dem unveränderten Hämoglobin — grüne Verbindungen erhalten wurden, die ein Verdochromogen mit einem Absorptionsmaximum in der Nähe von 600 mμ bildeten.

Der höchste Anteil von unverändertem Verd wurde erhalten, wenn die Verdoglobinlösung mit Pyridin-Chloroform oder Picolin-Chloroform behandelt wurde. Allerdings war das im Chloroformextrakt enthaltene Verd noch stark verunreinigt und die Ausbeute schlecht. Besser gelang die Abtrennung und Reinigung des Verd durch Spaltung des Verdoglobin$_S$ mit salzsaurem Azeton. Dabei blieb am Protein Eisen oft nur in einer Konzentration von 0,05% zurück. Die abgetrennte prosthetische Gruppe war ein Gemisch von etwa $^2/_3$ Verd und $^1/_3$ Häm mit einem Eisengehalt von 3—4%. Es waren also noch andere Bruchteile, vielleicht am Verd haftend, mit abgetrennt. Aus dem salzsauren Azeton wurden Häm und Verd mit Ammoniak gefällt. Wurde in stärker saurem Azeton wieder aufgenommen und mit Ammoniak gefällt, so war der Eisengehalt bereits auf 6—7% angestiegen. Dann wurde in

[15] Mörner, O.: Z. physiol. Chem. **29**, 187 (1908).

Pyridin-Chloroform aufgenommen und mit Petroläther gefällt, schließlich in wäßrigem Ammoniak gelöst und mit Salzsäure gefällt. Das Präparat hatte dann 7—9% Eisen. Das Verhältnis Verd zu Häm blieb bei den einzelnen Fällungen ungefähr gleich. Häm und Verd ließen sich chromatographisch an der Talkumsäule trennen, doch war die Rückgewinnung intakten Verds vom Talkum bisher unbefriedigend.

Die Lichtabsorption des gereinigten Verds als Pyridin-Verdochromogen ist in Abb. 1 wiedergegeben. Die Absorptionskurve wurde erhalten durch Abzug der Extinktion des Hämochromogens von der des Gemisches von Verdochromogen und Hämochromogen. Die Konzentration des Hämochromogens wurde aus der Differenz der Absorption bei 554 und 540 mμ ermittelt.

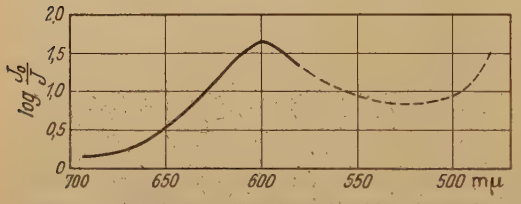


Abb. 1. Lichtabsorption von Pyridin-Verdochromogen$_S$. Die Absorption wurde ermittelt durch Abzug der Absorption des Hämochromogens von der des Gemisches beider Chromogene.

In Übereinstimmung mit älteren und neueren Beobachtungen anderer Autoren enthielten unsere Verdoglobin$_S$-Präparate große Mengen Schwefel, dessen größter Teil sich mit Schwefelkohlenstoff und Benzol extrahieren ließ. Aber ein Teil des Schwefels war mit Lösungsmitteln nicht abzutrennen. Auch nach der Spaltung in Protein und prosthetische Gruppe enthielten die Präparate der prosthetischen Gruppe Schwefel. Bei einigen Präparaten nahm der Schwefelgehalt bei der Reinigung sogar noch zu. Präparate die schließlich einen Eisengehalt von 7—9% hatten, wiesen etwa 10% Schwefel auf. Unter Berücksichtigung des Anteils an unverändertem Hämoglobin kämen im Verdoglobin auf ein Atom Eisen 2—3 Atome Schwefel. Es erscheint uns danach höchst wahrscheinlich, daß das Verdoglobin$_S$ Schwefel enthält, was schon MICHEL[4], HAUROWITZ[3] und NIJVELD[5] aus ihren Untersuchungen geschlossen hatten. Allerdings besteht in quantitativer Hinsicht keine Übereinstimmung.

MICHEL und NIJVELD, die das Verdoglobin untersuchen, kommen zu dem Schluß, daß das Verd ein Atom Schwefel enthält, während HAUROWITZ durch Analyse des Porphyrins aus der Sulfhäminproteose zwei Atome Schwefel je Verd findet und unsere Untersuchungen des Verd ebenfalls etwa zwei Atome Schwefel je Verd ergeben. MICHEL[4] und NIJVELD[5] beschreiben eine Abtrennung des Schwefels aus dem Verdoglobin durch Behandlung mit Brom. Wenn es sich dabei um eine Abtrennung von Schwefel aus dem Verdoglobin handelte, so dürfte man wesentliche strukturelle Veränderungen der prosthetischen Gruppe erwarten, etwa eine Rückführung in Hämoglobin oder die Hinterlassung einer Hydroxyl- oder Ketogruppe am Orte der Bindung des Schwefels

oder gar eine Aufspaltung des Porphyrinringes zu Gallenfarbstoff. Solche Veränderungen müßten auch das Spektrum des Verdoglobins beeinflussen. Wir konnten nach Behandlung des Verdoglobin$_S$ mit Brom am Spektrum des Verdoglobins keine Veränderungen finden, die auf eine solche Veränderung der Struktur hindeuten könnten. NIJVELD[5] beschreibt ferner eine Abspaltung von Schwefel aus Verdoglobin$_S$ und Überführung in Hämoglobin oder eine ähnliche Verbindung durch Kaliumzyanid. Wir konnten jedoch aus Verdoglobinlösungen, die mit Blausäure versetzt waren, unverändertes Verd$_S$ abtrennen.

LIST[16] und später NIJVELD[5] haben durch Einwirkung von starker Säure auf Gemische von Verdoglobin$_S$ und Hämoglobin ein Porphyrin erhalten, das dem aus Hämoglobin erhaltenen spektroskopisch glich. Sie nehmen jedoch an, daß es nicht dem Hämoglobinanteil des Gemisches entstammte, sondern dem Verdoglobin$_S$.

Wir haben das vom Protein abgetrennte Gemisch von Verd und Häm mit Methanol-Chlorwasserstoff behandelt zur Veresterung und Herausspaltung des Eisens. Dabei wurde zwar keine Gallenfarbstoffbildung wohl aber wiederum brauner Farbstoff beobachtet, wie er immer bei Einwirkung von Säure auf Verdoglobin auftrat, daneben Protoporphyrinester und ein Porphyrinester, der sich vom Protoporphyrinester unterschied. Dieser wurde dem Äther schon durch niedere Salzsäurekonzentrationen entzogen. Seine Banden sind gegenüber denen des Protoporphyrins stark nach ROT verschoben und haben ihre Absorptionsmaxima in Äther bei 525, 555, 593 und 650 mμ.

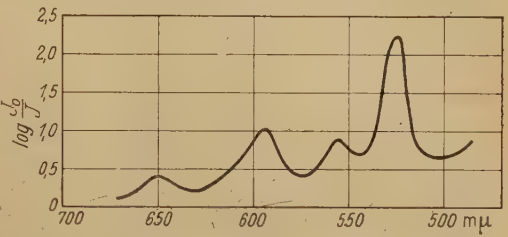


Abb. 2. Lichtabsorption des Porphyrinesters aus Verdoglobin$_S$, erhalten aus der Absorption des Gemisches mit Protoporphyrinester durch Abzug dessen Absorption.

Der Porphyrinester wurde aus Verd$_S$-Präparaten erhalten, die durch vier verschiedene Extraktionsverfahren aus Verdoglobin$_S$ gewonnen wurden, nämlich sowohl durch Abtrennung des Verd$_S$ mit Schwefelsäure-Äthanol wie mit Salzsäure-Azeton, Pyridin-Chloroform oder Eisessig-Pyridin-Chloroform. Es dürfte sich demnach um ein im Verdoglobin$_S$ vorgebildetes Porphyrin handeln.

Nicht nur die Lage der Absorptionsmaxima weicht von denen des Protoporphyrinesters ab, auch der Typ des Spektrums ist kein Ätiotyp sondern Phyllotyp. In Abb. 2 ist die Absorptionskurve des Esters in Äther wiedergegeben.

Wenn man auch aus den Daten noch keine sicheren Schlüsse auf die Konstitution des Porphyrins ziehen kann, so darf man vielleicht

[16] LIST, P.: Z. physiol. Chem. **135**, 95 (1924).

doch auf Grund der systematischen Untersuchungen HANS FISCHERS vermuten, daß Phyllotyp des Spektrums und niedrige Säurezahl für Substitution am Brückenmethin und am Ring sprechen. Vielleicht entspricht die von HAUROWITZ[3] gegebene Formulierung bereits der Konstitution des Verdoglobin$_S$.

Durch die Behandlung des Verdoglobin$_S$ mit Methanol-Chlorwasserstoff wird ein brauner Farbstoff gebildet, der in Alkohol löslich ist, aber nicht in Äther und nicht in Wasser. Es scheint sich um den gleichen Farbstoff zu handeln, der auch bei Säurebehandlung des Verdoglobin$_S$ auftritt. Der Farbstoff ist in verdünnter Lösung gelb. Er steht vermutlich zu dem aus dem Blutfarbstoff entstehenden Harnfarbstoff in Beziehung.

Die Annahme von Schwefel in der prosthetischen Gruppe des Verdoglobin$_S$ führt zu der Frage, ob dieses durch Reaktion von Schwefelwasserstoff und Sauerstoff mit Hämoglobin gebildete Verdoglobin identisch ist mit dem, das in vivo durch Wirkung verschiedener Pharmaca (Phenazetin, Sulfonamide u. a.) beobachtet wird. Die Identifizierung stützt sich im wesentlichen auf die gleiche Lage der Absorptionsmaxima der beiden Verdoglobine und ihrer Kohlenoxydverbindungen im roten Spektralgebiet. Wir hatten schon früher beobachtet, daß die durch Zusatz von Pyridin und Dithionit oder von Hydrazinhydrat gebildeten Verdochromogene und deren Kohlenoxydverbindungen nicht identisch sind mit den aus Verdoglobin$_S$ (in vitro) erhaltenen[12]. Andererseits können durch Einwirkung von Arsenwasserstoff und Sauerstoff oder Hydroxylamin und Sauerstoff Verdoglobine entstehen, die selbst wie ihre Kohlenoxydverbindungen die gleiche Lichtabsorption haben wie das Verdoglobin$_S$.

Versuche.

Methoden. Die Blutfarbstoffkonzentration wurde photometrisch bestimmt durch Messung der Extinktionsänderung im roten Gebiet bei Überführung von Hämiglobin in Hämiglobinzyanid [17,18,19]. Die Verdoglobinkonzentration wurde ebenfalls photometrisch gemessen[19].

Zur Bestimmung des Eisengehaltes wurden die Verbindungen, wie in früheren Untersuchungen bei 500° trocken verbrannt, der Rückstand in Salzsäure gelöst, die überschüssige Salzsäure auf dem Wasserbad verjagt, das Eisen nach Reduktion mit Sulfit in den o-Phenanthrolinkomplex übergeführt und dessen Lichtabsorption in Azetat vom p_H 4,5 mit dem von den Filtern GG 11 und BG 7 durchgelassenen Licht gemessen.

Der Schwefelgehalt der Verbindungen wurde nach dem Verfahren von FOLIN [20] und BENEDICT[21] bestimmt. Die zu veraschende Substanz wurde mit 5 ml

---

[17] EVELYN, K. E. u. H. T. MALLOY: J. biol. Chem. (Am.) **126**, 655 (1938). — [18] HAVEMANN, R., F. JUNG, B. v. ISSEKUTZ jun.: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — [19] KIESE, M.: Klin. Wschr. **1942**, 565. — [20] FOLIN, O.: J. biol. Chem. (Am.) **1**, 131 (1905). — [21] BENEDICT, S. R.: J. biol. Chem. (Am.) **6**, 363 (1909).

Benedicts-Reagens (20 g Kupfernitrat und 5 g Kaliumchlorat in 100 ml) und 1 ml gesättigter Natriumkarbonatlösung gelöst oder suspendiert, die Lösung zur Trockne gebracht und geschmolzen. Die Schmelze wurde nach dem Erkalten in verdünnter Salzsäure unter Erwärmen gelöst und das Sulfat durch Zusatz von 5 ml 5%igem Bariumchlorid als Bariumsulfat gefällt.

Der Niederschlag wurde in einen Porzellanfiltertiegel filtriert, geglüht und gewogen.

Photometrische Konzentrationsbestimmungen wurden mit dem Photometer von Havemann durchgeführt und Extinktionskurven mit dem Spektralphotometer von Zeiß-Ikon aufgenommen.

Darstellung des Verdoglobin$_S$.

Die Herstellung der verwendeten Verdoglobin$_S$-Präparate erfolgte im wesentlichen wie in früheren Untersuchungen[13].

Gewaschene rote Zellen vom Rinde wurden in der gleichen Menge Phosphat vom p_H 6 suspendiert und in eine Flasche von 20fachem Volumen gegeben. Die Flasche wurde wiederholt evakuiert und dazwischen rotiert zur Entfernung des Sauerstoffs aus dem Blute. Danach wurde die evakuierte Flasche mit Schwefelwasserstoff gefüllt bis zum Atmosphärendruck und Luft eingeblasen bis zu einem Sauerstoffdruck von etwa 15 mm Hg.

Die Füllung der Flasche mit Schwefelwasserstoff und Luft wurde täglich erneuert und die Flasche zwischen den Füllungen ununterbrochen langsam rotiert. Hydroxylamin als Katalysator wurde nicht verwendet.

Nach 10—20 Tagen wurde der Flascheninhalt in Cellophanschläuchen 2—3 Tage gegen fließendes Wasser dialysiert. Danach wurde zur Abtrennung des Schwefels und ausgefallenen Proteins zentrifugiert. Der Verlust an Blutfarbstoff war gering. Die Lösungen enthielten noch um 10 g Blutfarbstoff je 100 ml. Von dem in Lösung verbliebenen Blutfarbstoff war meist 70—80% in Verdoglobin verwandelt. Die besten Präparate wurden im Winter 1946/47 erhalten, als die Einwirkung von Schwefelwasserstoff und Sauerstoff bei Laboratoriumstemperaturen von 2—5° über 3 Wochen fortgesetzt wurde; dabei wurden 85—90% des Blutfarbstoffs in Verdoglobin übergeführt.

Verdoglobin$_S$ in Eisessig.

Wurde dialysierte Verdoglobin$_S$-Lösung in die doppelte Menge Eisessig gegossen, so trat bald schnell, bald langsamer Braun-Rot-Färbung ein. Wurde diese Lösung dann in Äther gegossen und diese mit Azetatlösung und Wasser gewaschen, so blieb die Farbe unverändert. Aus dem Äther konnte mit Salzsäure Biliverdin nicht extrahiert werden. Mit 5%iger Salzsäure wie Salzsäure höherer Konzentration wurden

minimale Mengen eines rötlich-violetten Farbstoffes extrahiert, der wegen seiner kleinen Menge nicht weiter charakterisiert werden konnte.

Abtrennung und Reinigung der prosthetischen Gruppe des Verdoglobin$_S$.

Die Veränderung der Farbe des Verdoglobin$_S$ in Eisessig schloß die Möglichkeit aus, vom Verdoglobin$_S$ die prosthetische Gruppe nach dem Verfahren von SCHALFEJEFF[22] zur Darstellung von Hämin aus Hämoglobin in unverändertem Zustande abzutrennen. Überdies erfolgte nach Eingießen von Verdoglobinlösung in chloridhaltigen heißen Eisessig und Abkühlen keine Kristallisation irgend eines Hämderivates, vielmehr blieb der braunrote Farbstoff in Lösung.

Die Extraktion der prosthetischen Gruppe aus dem durch Hitze denaturierten Protein mit Schwefelsäure-Äthanol nach MÖRNER[15] lieferte Extrakte, in denen der braune Farbstoff überwog. Schon beim Erhitzen der mit Schwefelsäure angesäuerten Verdoglobinlösung zur Denaturierung des Proteins begann die Braunfärbung, die bei der weiteren Aufarbeitung zunahm. In einigen Präparaten blieb jedoch soviel unverändertes Verdoglobin erhalten, daß aus ihm der unten beschriebene Porphyrinester gewonnen werden konnte.

Die Extraktion mit Schwefelsäure und Amylalkohol, mit der EDLBACHER und v. SEGESSER[23] aus Verdoglobin$_A$ Gallenfarbstoff erhalten hatten, lieferte nur braune Lösungen, in denen kein Verdoglobin$_S$ mehr nachweisbar war. Beim Erwärmen der Verdoglobinlösung mit der doppelten Menge 2 n Schwefelsäure ging das Verdoglobin$_S$ schnell in braunen Farbstoff über, der zum größten Teil vom Amylalkohol aufgenommen wurde.

Die für die grüne prosthetische Gruppe schonendste Extraktion war die mit Pyridin oder Picolin und Chloroform. Die dialysierte Verdoglobinlösung wurde mit der gleichen Menge Pyridin oder Picolin versetzt und nach 12 oder 24 Stunden mit der doppelten Menge Chloroform mehrere Minuten kräftig durchgeschüttelt und zentrifugiert. Die wäßrige Schicht war farblos und wurde verworfen. Die Chloroformlösung, die tief dunkelgrün gefärbt war, wurde unter dem ausgefällten Protein heraus gelassen und filtriert. Das Protein wurde nochmals mit Pyridin-Chloroform extrahiert, wobei sich meist keine Emulsion mehr bildete und zur Abtrennung des Chloroforms ohne Zentrifugieren filtriert werden konnte. Die vereinigten Chloroformextrakte wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockne gebracht.

---

[22] WILLSTÄTTER, R.: Liebigs Ann. **373**, 232 (1910); **385**, 197 (1911). — [23] EDLBACHER, S. u. A. v. SEGESSER: Naturw. **25**, 461, 557, 667 (1937).

Die Pyridin-Chloroformextraktion trennte nur einen geringen Teil des Verdoglobin und Hämoglobin vom Protein ab. Dieses blieb auch nach mehrfacher Extraktion noch intensiv gefärbt. Durch Zusatz von Eisessig zum Pyridin wurde zwar die Ausbeute an Farbstoff vermehrt, doch war der Anteil an unverändertem $Verd_S$ dann geringer. Zusatz von Hydrazinhydrat zum Pyridin erleichterte ebenfalls die Abtrennung, doch wurde dann während der Extraktion $Verdochromogen_H$ (Warburgs[24] „grünes Hämin") gebildet.

Die Pyridin-Chloroformextrakte wie die Eisessig-Pyridin-Chloroformextrakte enthielten neben dem Verd und Häm eine größere Menge eisenfreier Verun reinigungen, so daß der Eisengehalt der Rückstände nur 2—3% betrug.

Günstiger war die Ausbeute an Gesamtfarbstoff bei der Abtrennung der prosthetischen Gruppe mit salzsaurem Azeton.

Zwar war das Verhältnis Verd-Häm im Extrakt zugunsten des Häms verschoben, und die Extrakte enthielten etwa $^2/_3$ $Verd_S$ und $^1/_3$ Häm. Doch konnte mit diesem Verfahren leichter Ausgangsmaterial für weitere Reinigung und Untersuchung gewonnen werden.

150 ml $Verdoglobin_S$-Lösung wurden vorsichtig mit 1 ml 37%iger Salzsäure versetzt und gleich darauf unter Rühren langsam in 1,5 Liter Azeton, das mit 1,5 ml 37%iger Salzsäure versetzt war, eingegossen. Nach einer Viertelstunde wurde filtriert und der Rückstand mit Azeton nachgewaschen. Die Abtrennung des Verds und Häms war bei den einzelnen Verdoglobinpräparaten ungleich. Während bei einigen Präparaten das Protein nach der Behandlung mit salzsaurem Azeton und Waschen mit Azeton fast farblos war und nur noch 0,04% Eisen enthielt, blieben andere Präparate noch deutlich gefärbt, mit einem entsprechend höheren Eisengehalt.

Aus der salzsauren Azetonlösung wurden Häm und Verd durch Neutralisation mit wäßriger Ammoniaklösung gefällt und mit Azeton und Äther gewaschen. Der Niederschlag enthielt nach Trocknen bei 120° 4% Eisen und 6% Schwefel. Nach Auflösung eines Teils in wäßrigem Pyridin und Reduktion mit Dithionit waren in der Lösung Pyridinverdochromogen und -hämochromogen vorhanden.

Zur weiteren Reinigung wurde das Gemisch von Verd und Häm in stärker saurem Azeton (1 ml 37%ige Salzsäure auf 50 ml Azeton) gelöst und wieder mit Ammoniak gefällt. Eisengehalt des Niederschlags 9,1%, Schwefelgehalt 9,6%.

Der Niederschlag wurde dann in Pyridin-Chloroform (1 Teil Pyridin, 3 Teile Chloroform) gelöst, filtriert und mit der mehrfachen Menge Petroläther gefällt und gewaschen. Eisengehalt des Rückstandes 9,2%, Schwefelgehalt 9,7%.

Schließlich wurde in wäßrigem Ammoniak (5—10% NH_3) gelöst und mit Salzsäure gefällt. Der Rückstand enthielt nach dem Waschen mit Wasser, Azeton und Äther 8,5% Eisen und 9,9% Schwefel.

[24] Warburg, O. u. E. Negelein: Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 1816 (1930).

Der Anteil von Häm blieb während der verschiedenen Umfällungen praktisch gleich.

Einwirkung von Brom und Blausäure auf Verdoglobin$_S$.

Zur Prüfung von Veränderungen des Verd$_S$ durch Reaktion mit Brom wurden dialysierte Verdoglobinlösungen, die je 100 ml etwa 10 g Protein enthielten, mit der gleichen Menge gesättigter wäßriger Bromlösung versetzt. Die grüne Farbe der Lösung blieb nach dem Zusatz von Brom erhalten. Nach 1—3 Stunden wurde der Überschuß von Brom mit Arsenit reduziert; bei weiterer Behandlung mit Hydrazinhydrat unterblieb der Zusatz von Arsenit.

Wurde das mit Brom behandelte Verdoglobin in die doppelte Menge Eisessig gegossen und danach in Äther gegeben, so war im Äther ebenso wie beim unbehandelten Verdoglobin kein Gallenfarbstoff nachzuweisen.

Zusatz von Hydrazinhydrat oder Pyridin und Dithionit wies die Anwesenheit der grünen prosthetischen Gruppe in derselben Konzentration wie im unbehandelten Verdoglobin nach. Diese konnte mit den oben beschriebenen Verfahren abgetrennt werden. Wurde das Verd aus dem mit Brom behandelten Verdoglobin$_S$ mit Pyridin-Chloroform extrahiert, das Lösungsmittel im Vakuum verjagt, der Rückstand in Pyridin gelöst, das Verd mit der mehrfachen Menge Petroläther gefällt, dann in Pyridinwasser aufgenommen und mit Dithionit reduziert, so war wieder ein Verdochromogen mit dem Absorptionsmaximum bei 600 mμ vorhanden. Bei der Behandlung von Verd in wasserfreiem Pyridin mit Benzoylchlorid oder Hydroxylamin traten keine Veränderungen der Lichtabsorption ein, die auf eine Reaktion mit neuen Hydroxyl- oder Ketogruppen hätten schließen lassen.

Die Wirkung von Blausäure auf Verdoglobin$_S$ wurde an nicht dialysierten, also stark gepufferten Lösungen untersucht. 150 ml Verdoglobinlösung wurden mit 1 g Kaliumzyanid versetzt und nach 3 Stunden die prosthetische Gruppe mit Azeton-Salzsäure abgetrennt und mit Ammoniak gefällt. Nach nochmaliger Umfällung aus salzsaurem Azeton mit Ammoniak und Aufnahme in Pyridinwasser war nach Reduktion mit Dithionit unverändertes Verdochromogen$_S$ nachweisbar.

Porphyrinester aus Verdoglobin$_S$.

Zur Veresterung und Abspaltung des Eisens wurde das Gemisch aus etwa $^2/_3$ Verd und $^1/_3$ Häm in Methylalkohol-Chlorwasserstoff unter Stickstoff am Rückfluß gekocht. Das Gemisch von Verd$_S$ und Häm wurde mit 30 ml Methylalkohol übergossen, zur Entfernung von Sauer-

stoff Stickstoff durchgeleitet und dann Chlorwasserstoff bis zur Sättigung eingeleitet. Unter Durchleitung von Stickstoff wurde 3 Stunden am Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde die grüne Lösung in das doppelte Volumen peroxydfreien Äthers gegossen und mit Kalilauge sowie Wasser gewaschen. Danach wurde der Äther je 2mal mit je 10 ml Salzsäure steigender Konzentration extrahiert. Während bei der Extraktion mit Säure brauner Farbstoff in größerer Menge an der Grenze Äther-Wasser ausfiel, konnten durch die fraktionierte Extraktion mit Salzsäure zwei Porphyrinester erhalten werden. Nach Vorextraktion mit niederen Salzsäurekonzentrationen (2 und 4% Salzsäure) wurde mit Salzsäurelösungen über 6% vornehmlich Protoporphyrinester extrahiert. In den Extrakten mit geringeren Salzsäurekonzentrationen war neben Protoporphyrinester in etwa gleicher Konzentration ein anderer Porphyrinester vorhanden, dessen Banden gegenüber denen des Protporphyrins nach Rot verschoben waren.

Eine weitere Trennung der beiden Ester gelang durch nochmalige fraktionierte Extraktion mit Salzsäure aus Äther. Dazu wurden die mit 2 und 4% Salzsäure erhaltenen Extrakte mit Kalilauge wieder in Äther getrieben und dieser zunächst 2mal mit 1%iger Salzsäure und dann mit 2%iger Salzsäure extrahiert. In dem Extrakt mit 2% Salzsäure war der neue Ester dann in höherer Konzentration vorhanden als der Protoporphyrinester. Auch aus dem Extrakt, das aus dem ersten Äther mit 8%iger Salzsäure gewonnen war, konnten nach Überführen in Äther mit 2%iger Salzsäure noch geringe Mengen des neuen Esters erhalten werden. In Abb. 2 ist eine Extinktionskurve des Esters in trockenem Äther wiedergegeben. Sie wurde erhalten durch Subtraktion der Extinktion des beigemischten Protoporphyrinesters unter der Annahme, daß die spezifische Extinktion der beiden Ester in den beiden entsprechenden Maxima bei 503 bzw. 525 mμ gleich groß ist. Außer in der Lage der Maxima weicht das Spektrum des Esters aus Verdoglobin$_S$ auch im Typ von dem des Protoporphyrins ab, es zeigt Phyllotyp.

Die geringe Menge des Esters, die erhalten wurde, erlaubte noch keine völlige Abtrennung des Protoporphyrinesters. Der Ester machte in seiner ganzen Menge nur einen Teil der des Protoporphyrinesters aus. Demnach wurde durch die Behandlung mit salzsaurem Methanol der größere Teil des Verdoglobins nicht in Porphyrinester, sondern eine andere Verbindung, wahrscheinlich jenen braunen Farbstoff, umgewandelt.

Zusammenfassung.

Vom Verdoglobin$_S$ (Sulfhämoglobin), das durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff und Sauerstoff auf Hämoglobin hergestellt war,

wurde die prosthetische Gruppe durch verschiedene Verfahren abgetrennt und gereinigt. Eine Trennung des Verd vom Häm gelang noch nicht, doch konnten Gemische von $^2/_3$ Verd und $^1/_3$ Häm bis zu einem Eisengehalt von 9% gereinigt werden. Diese Präparate enthielten etwa 10% Schwefel, entsprechend etwa 2 Atomen Schwefel auf 1 Atom Eisen im Verd.

In Eisessig und in Methanol-Chlorwasserstoff zerfiel das $Verd_S$ nicht in Gallenfarbstoff, sondern ging zum großen Teil in einen (oder mehrere) braunen Farbstoff über. Mit Methanol-Chlorwasserstoff wurde ferner aus dem $Verd_S$ ein Porphyrinester vom Phyllotyp mit gegenüber dem Protoporphyrinester stark nach Rot verlagerten Banden und niederer Säurezahl erhalten.

Nachtrag zu der Arbeit:

Die Hemmung der Wasserdiurese durch Erhöhung des osmotischen Druckes im Karotisplasma und ihre Vermittlung über die Neurohypophyse *.

Von

E. B. Verney.

Die in dieser Arbeit niedergelegten Abbildungen, sowie das Wesentliche des textlichen Inhaltes wurden bereits im Lancet **1946 II**, 739, 781 veröffentlicht.

* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **205**, 387 (1948).

COUNTWAY LIBRARY
HC 6EBG

4/13/12

J. HOLZER
BINDER